

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ALICE DAMIANI BERNARDES

**CO-INOCULAÇÃO DE RIZÓBIOS AUTÓCTONES DE ÁREA
DE RESTINGA E FUNGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR EM
*MIMOSA BIMUCRONATA***

FLORIANÓPOLIS, SC

2018



ALICE DAMIANI BERNARDES

CO-INOCULAÇÃO DE RIZÓBIOS AUTÓCTONES DE ÁREAS DE
RESTINGA E FUNGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR EM *MIMOSA*
BIMUCRONATA

Tese submetida como requisito final para
obtenção do grau de bacharel em Ciências
Biológicas pela Universidade Federal de Santa
Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio R. F. S. Soares.

Co-orientadora: MSc. Andressa Danielli Canei.

FLORIANÓPOLIS, SC

2018

“O papel dos infinitamente pequenos é infinitamente grande.”

Louis Pasteur

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à Universidade Federal de Santa Catarina que me propiciou a oportunidade de realizar essa graduação e esse projeto, mesmo com as suas limitações. À FAPESC por ter colaborado para a realização desse trabalho.

Não poderia deixar de expressar minha gratidão aos meus orientadores, Prof. Dr. Cláudio Soares e Andressa Canei, além de outras pessoas do laboratório que sempre prestaram auxílio e sanaram as dúvidas que surgiram desde o início. Principalmente a Mariana Galvan, Luiz Fernando, Anabel Gonzalez, Emanuela Pille, Shantau Stoffel, Ednilson Meyer, Melina da Silva Floriani e aos professores Admir Giachini e Rubens Duarte.

Gostaria de agradecer também a Deus, porque sem ele nada seria possível. À minha família, meus pais, minha irmã, meu cunhado e meu afilhado por todo o apoio e paciência durante a realização desse trabalho.

Também quero expressar gratidão aos meus amigos, porque afinal, precisamos aprender a lidar com os problemas e a esquecer deles em certos momentos. Obrigada principalmente pelo apoio, bom humor, danças e conversas.

RESUMO

O presente trabalho visou determinar os efeitos da co-inoculação de rizóbios autóctones isolados de uma área de restinga, o *Burkholderia taichungensis* (UFSC-R141) e o *Bradyrhizobium* sp. (UFSC-R155), e de um inoculante comercial a base de um fungo micorrízico arbuscular (FMA), *Rhizophagus intraradices*, no crescimento de uma espécie de leguminosa nativa, o maricá (*Mimosa bimucronata*), em solo de restinga do Parque Estadual do Rio Vermelho. O experimento foi conduzido em casa de vegetação por um período de seis meses, onde as sementes foram colocadas em tubetes com o solo de áreas de restinga seca (RS) estéril. Esse consistiu em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto por sete tratamentos inoculados: FMA; rizóbio UFSC-R141; rizóbio UFSC-R155; UFSC-R141+UFSC-R155; UFSC-R141+FMA; UFSC-R155+FMA; UFSC-R141+UFSC-R155+FMA (Mix) e dos tratamentos controles: um tratamento com alto teor de N inoculado com FMA, um tratamento sem inoculação com baixo teor de N e um tratamento com alto teor de nitrogênio, com cinco repetições cada. Após os seis meses em casa de vegetação, foram avaliadas a altura das plantas, capacidade nodulífera dos rizóbios, o número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e da raiz, teor e acúmulo de nitrogênio e de fósforo, número de esporos e colonização micorrízica. Os resultados que se mostraram mais eficientes no crescimento da planta foram observados com o tratamento de co-inoculação UFSC-R141+FMA e no Mix. Para o parâmetro N acumulado, por exemplo, o tratamento UFSC-R141+FMA gerou um incremento de 153% em relação ao NI. Os tratamentos Mix e UFSC-R141+FMA apresentaram valor médio 31,78% superior ao controle não inoculado (NI) no parâmetro massa seca da parte aérea, o que mostra a eficiência de UFSC-R141 quando junto com o um inoculante a base de um FMA, *Rhizophagus intraradices*.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium* sp.; *Burkholderia taichungensis*; leguminosa; *Rhizophagus intraradices*; simbiose tripartite.

ABSTRACT

This paper wanted to measure the effects of the combinations with two nitrogen fixing bacterias (UFSC-R141 *Burkholderia taichungensis* and UFSC-R155 *Bradyrhizobium* sp.) from the Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. And an arbuscular mycorrhizal fungi (AMF-*Rhizophagus intraradices*) in a species of legume from the same place (*Mimosa bimucronata*) to recover the soil. This experiment was conducted in a greenhouse for six months, the seeds were placed in tubetes with cured sandbanks soil. It was a completely randomized design with 10 combinations (AMF; UFSC-R141; UFSC-R155; UFSC-R141+UFSC-R155; UFSC-R141+AMF; UFSC-R155+AMF; UFSC-R141+UFSC-R155+AMF-Mix; one with rich content of nitrogen and the AMF; and two test combinations without any microorganisms with low and high level of nitrogen), with 5 replications each. After 6 months in the greenhouse, the height, trunk diameter, number of nodes and their weight, weight of roots and of aerial parts, amount of nitrogen and phosphorus, number of spores, mycorrhizal settling were measured for each combination. The findings showed that the two best combinations for this species was UFSC-R141+AMF and Mix because of the high amount of nitrogen (UFSC-R141+AMF showed an increase of 153% over the non-inoculated treatment-NI). Also, the combinations Mix and UFSC-R141+AMF had an average of 31,78% over NI combination for weight of aerial parts. All of these showed how good the bacteria UFSC-R141 is to improve the growth of *M. bimucronata* specially with the inoculant fungi *Rhizophagus intraradices*.

Keywords: *Bradyrhizobium* sp.; *Burkholderia taichungensis*; legume; *Rhizophagus intraradices*; tripartite symbiosis.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
2. HIPÓTESE	11
3. OBJETIVOS	12
3.1. Objetivo geral	12
3.2. Objetivos específicos.....	12
4. REFERENCIAL TEÓRICO	13
4.1. Parque Estadual do Rio Vermelho (PAERV).....	13
4.2. Espécies alóctones como invasoras de ambientes naturais	15
4.3.Revegetação de áreas degradadas.....	16
4.4. Fabaceae na revegetação de áreas degradadas	16
4.4.1. <i>Mimosa bimucronata</i> (DC.) Kuntze	17
4.5. Rizóbios: caracterização e funções.....	19
4.6. Fungos micorrízicos arbusculares: caracterização e funções	21
4.7. Potencial de co-inoculação de microrganismos	24
5. MATERIAL E MÉTODOS	27
5.1.Área de coleta do solo	27
5.2. Material biológico empregado	28
5.2.1. Leguminosa arbórea	28
5.2.2. Rizóbios autóctones do PAERV e FMA	28
5.3. Condução experimental.....	29
5.4. Análises estatísticas.....	30
6. RESULTADOS.....	31
6.1. Efeitos da co-inoculação de microrganismos no crescimento de <i>M. bimucronata</i>	31

6.2.	Efeitos da co-inoculação de microrganismos no teor e acúmulo de N e P em <i>M. bimucronata</i>	32
6.3.	Efeitos da co-inoculação de microrganismos na colonização e nodulação das raízes de <i>M. bimucronata</i>	33
7.	DISCUSSÃO	35
7.1.	Efeitos da co-inoculação de microrganismos no crescimento de <i>M. bimucronata</i>	35
7.2.	Efeitos da co-inoculação de microrganismos no teor e acúmulo de N e P em <i>M. bimucronata</i>	36
7.3.	Efeitos da co-inoculação de microrganismos na nodulação e colonização das raízes de <i>M. bimucronata</i>	37
8.	CONCLUSÃO	39
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
	REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

As restingas são ambientes costeiros pertencentes ao Bioma da Mata Atlântica, formados por planícies e terrenos arenosos, muito bem adaptados a variações climáticas como ventos, alta salinidade e baixa fertilidade do solo (CAMPOS et. al., 2010). Os ambientes de restinga são muito diversos com relação à umidade, já que em algumas áreas existe um déficit hídrico por causa dos solos muito arenosos e em outros, acúmulo de água. Essas características possibilitam que apenas vegetações bem adaptadas a tais condições sejam encontradas no local. A vegetação de restinga pode ser classificada em herbáceas, arbustivas e florestais (MENEZES, 2007). Dentre as espécies típicas desse tipo de ambiente destacam-se as bromélias, cactáceas e trepadeiras (SILVA, 2018).

Devido à ação antrópica, facilitada pela proximidade da restinga ao ambiente urbano, grandes áreas desses terrenos já foram suprimidas (MANTOVANI, 2003; ROCHA et. al., 2007). Por se tratar também de um solo pobre em nutrientes e frágil, devido às variações climáticas a que é submetido, sua recuperação é muito lenta quando comparada a outros ambientes (ROCHA et. al., 2007).

O Parque Estadual do Rio Vermelho (PAERV), situado na ilha de Santa Catarina, é um local que apresenta extensas áreas de restinga representando 49% da vegetação total do local (UFSC, 2007), porém a maior parte se encontra descaracterizada pela presença de muitas espécies alóctones, principalmente *Pinus* spp. Esse é caracterizado como uma espécie invasora, e como tal, dificulta o estabelecimento das espécies nativas, apresenta grande agressividade, além de que, inúmeros trabalhos vêm demonstrando aspectos negativos dessas espécies sobre os ambientes naturais (RICHARDSON, 1998; AQUILA, 2000; MOONEY & CLELAND, 2001; BECHARA, 2003; UFSC, 2007; ZALBA et. al., 2008) assim como diferenças significativas nos atributos microbiológicos do solo e nas comunidades microbianas (BARETTA et. al., 2003; NICODEMO, 2009; CANEI, 2017).

Espécies de leguminosas têm sido comumente empregadas em programas de revegetação e isso se deve a características como: facilitadoras da recomposição da vegetação nativa pelo seu pioneirismo na sucessão ecológica, resíduos vegetais que apresentam baixa relação carbono/nitrogênio, enriquecimento de nitrogênio no solo, maior tolerância à baixa fertilidade, crescimento rápido e potencial de associação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio (PIAGENTINI, 2004; SIQUEIRA et. al., 2008; NOGUEIRA, 2012).

Um meio de acelerar o estabelecimento de espécies nativas em ecossistemas alterados é a inoculação de microrganismos simbiotróficos como os rizóbios e os FMAs (SIQUEIRA

et. al., 2008). Em Canei (2017) foi demonstrada a capacidade de rizóbios autóctones isolados de uma área de restinga do PAERV no crescimento de três leguminosas nativas, *Mimosa bimucronata*, *Sophora tomentosa* e *Dalbergia ecastophyllum*. Os resultados obtidos demonstraram que esses isolados contribuíram no crescimento dessas leguminosas, especificamente na absorção de nitrogênio, massa seca da parte aérea, massa seca de raiz. Estudos têm demonstrado o efeito da co-inoculação entre FMAs e rizóbios principalmente em espécies com interesse agrícola, e foram observados resultados mais robustos quando da co-inoculação entre esses microrganismos (SILVA-JÚNIOR & SIQUEIRA, 1998; BURITY et. al., 2000; PRALON & MARTINS, 2001; MOREIRA et. al., 2008; ARAÚJO et. al., 2017; CANEI, 2017; FREIRE, 2017). No entanto não foram avaliadas as diferentes combinações entre os isolados que apresentaram os maiores resultados com relação à eficiência simbiótica, e nem a co-inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).

A *M. bimucronata*, conhecida popularmente como maricá, foi a espécie selecionada para o presente trabalho apresentando características como extremamente ramificada e espinhosa, se reproduzir por sementes e já foi testada em solos areno-argilosos com resultados eficientes (MARCHIORI, 1993).

A simbiose de plantas com FMAs já é bem estudada e mostra que a importância dessa relação é tão grande que talvez a evolução desses vegetais só foi possível com a ajuda do microrganismo (BUNDRETT, 2002; ALLEN et. al., 2003). Além disso, os fungos trazem inúmeros benefícios para as plantas, como aumento da tolerância desses vegetais a estresses ambientais (FOLLI-PEREIRA et. al., 2012), assimilação e transferência de nutrientes (SIQUEIRA et. al., 2007).

Para fazer a revegetação e tentar recuperar o solo do PAERV hoje degradado pela presença de espécies alóctones, o presente trabalho visa o favorecimento do crescimento de uma espécie nativa, a *Mimosa bimucronata*, por meio da co-inoculação de dois rizóbios autóctones do PAERV e um FMA cosmopolita. Dessa forma, a recuperação do solo local pode acontecer de forma mais rápida.

2. HIPÓTESE

A co-inoculação de estirpes de rizóbios autóctones de áreas de restinga com um inoculante a base de *Rhizophagus intraradices* favorece o crescimento e absorção de N e P pelo maricá em relação a inoculação de apenas um microrganismo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da co-inoculação de estipes de rizóbios autóctones de área de restinga e de um inoculante micorrízico arbuscular (*Rhizophagus intraradices*) em *Mimosa bimucronata*.

3.2. Objetivos específicos

- ✓ Determinar o efeito da co-inoculação de microrganismos no crescimento da *M. bimucronata* em solos de restinga;
- ✓ Determinar a capacidade de nodulação na co-inoculação de microrganismos em *M. bimucronata* em solo de restinga;
- ✓ Determinar a colonização micorrízica e a esporulação do FMA em *M. bimucronata* em solo de restinga;
- ✓ Determinar o efeito da co-inoculação de microrganismos no estado nutricional de *M. bimucronata*, por meio da determinação do teor de N e P.

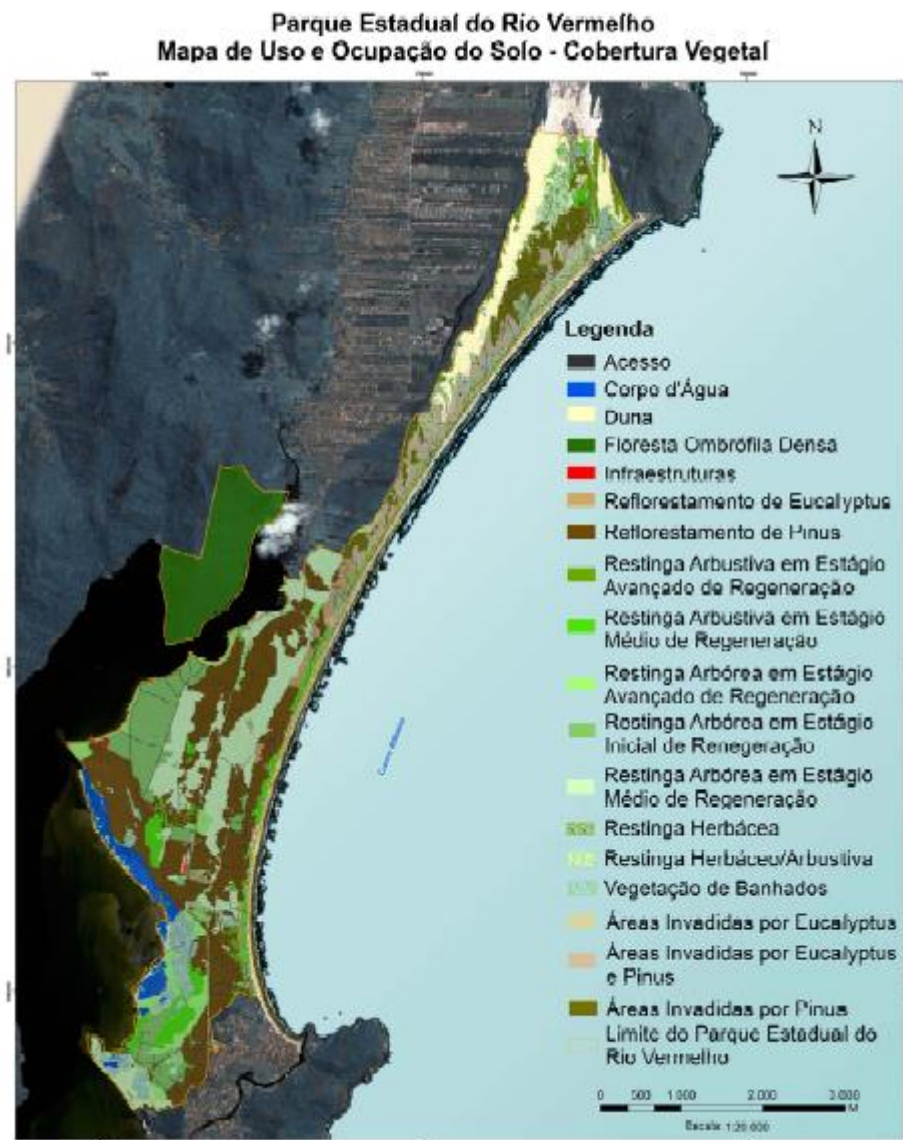


FIGURA 2. Mapa de Uso e Ocupação do Solo-cobertura vegetal do Parque Estadual do Rio Vermelho. Disponível em: FERREIRA et. al., 2009.

O PAERV possui extensas áreas ocupadas por espécies alóctones devido ao fato de que em 1962 foi classificado como uma Estação Florestal, para que a população tivesse acesso a uma área verde, além da experimentação e identificação de espécies que pudessem proteger a costa marítima do estado de Santa Catarina. Porém, para isso, foram plantadas por 12 anos, espécies de *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp. (FATMA, 2017), o que ocasionou o estabelecimento da vegetação atual do local.

4.2. Espécies alóctones como invasoras de ambientes naturais

Como mencionado anteriormente, o PAERV foi um dos locais que recebeu leis de incentivo fiscal para o plantio de espécies utilizadas na indústria do papel. Hoje essa área corresponde à maior parte do parque, devido à facilidade com que o *Pinus* spp., principalmente, tem de se disseminar (BECHARA, 2003; BECHARA et. al., 2013), mas também pelo clima úmido que favorece a germinação dessas sementes. Além disso, como o *Pinus* gera um sombreamento sobre espécies menores, isso leva a maior dificuldade de estabelecimento de outros vegetais, como os nativos (RICHARDSON, 1998; ZILLER, 2000; BECHARA et. al., 2013), além de diminuir a passagem de luz solar e a assimilação de carbono (GUREVITCH et. al., 2006), e também coníferas tornam o solo local mais pobre (DICK et. al., 2007), alteram o solo de forma a beneficiá-lo e prejudicar outras espécies, por meio da modificação da biota, da respiração microbiana, da densidade e da diversidade dos animais que vivem e dependem do solo, além da massa de carbono ali presente (BARETTA et. al., 2003).

Sabe-se também que a presença de acículas no solo, mesmo com o corte dos *Pinus*, faz com que a recuperação do local aconteça de forma mais lenta (DISPIGNO & ZALBA, 2003), e que essas tenham efeito de inibir a germinação e o estabelecimento de outros vegetais (AZEVEDO et. al., 2007; FERREIRA, 2017).

As plantas do gênero *Pinus*, especialmente *P. taeda* e *P. elliottii*, estão no Brasil desde 1880 e desde 1963 são utilizadas para silvicultura nas regiões Sul e Sudeste (SHIMZU, 2006). Após esse processo, começaram a ocorrer invasões nos locais, como nos campos gerais nos estados do Paraná e de Santa Catarina (ZILLER, 2001), no bioma do Cerrado em São Paulo (MAHMOUD et. al., 2003; PIVELLO, 2005), além da restinga, também em Santa Catarina (BECHARA, 2003), nos pampas gaúchos (ABREU, 2006) e nos campos de altitude do estado do Paraná (MOCOCHINSKI, 2006; VASHCHENKO et. al., 2007).

As coníferas como espécies invasoras já são registradas há muito tempo, começou em 1855 na África do Sul, em seguida na Nova Zelândia em 1880 e um pouco mais tarde na Austrália, 1950 (SIMBERLOFF et. al., 2010). Os motivos pelos quais os *Pinus* têm tanto sucesso como invasores biológicos no hemisfério Sul, além dos listados anteriormente, são: cultivo intensivo, dispersão das sementes pelo vento, ficam muito tempo nas áreas onde foram introduzidos, período como jovem é curto, além do pouco tempo entre a produção de sementes (HIGGINS & RICHARDSON, 1998).

4.3.Revegetação de áreas degradadas

Quando o solo é degradado, sendo que a causa pode ser natural ou não, suas qualidades físico-químicas são alteradas, e consequentemente as condições biológicas também, o que causa um desequilíbrio na funcionalidade dos ecossistemas. As causas podem ser inúmeras, como: erosão do solo, remoção ou substituição da vegetação, perda do estado de agregação do solo, mas também da capacidade de infiltração e armazenagem da água. Outros fatores são: a ocorrência de materiais tóxicos, perda da matéria orgânica do solo, assim como da biodiversidade, atividade da biota e a própria fertilidade (SIQUEIRA et. al., 2007).

A degradação do solo pode ser revertida. Um dos métodos é a recuperação, que é baseado em um plano e funciona como uma forma de utilização do solo preestabelecido e que com o tempo, suas funções ecológicas podem ser re-estabelecidas (SIQUEIRA et. al., 2007).

Um tipo de forma de recuperação é a revegetação. Essa prática é considerada a principal para que um novo solo seja formado, principalmente por evitar a erosão desse local e a poluição das águas, além de promover a manutenção das formas de vida selvagem (IBAMA, 1990). Quando o solo é revegetado, isso garante a sua proteção e recuperação, já que as plantas incorporam o carbono e energia para formar a cadeia trófica. Além disso, também interferem na regulação hídrica e térmica. Estimou-se que se os solos degradados fossem reflorestados, o sequestro de carbono chegaria de 50 a 300 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (LAL, 2004). Depois de estabelecida, a presença da vegetação garante a atividade da macrofauna no solo (engenheiros do solo), da microbiota do solo (quem garante o fluxo de energia e nutrientes no sistema solo-nutrientes-plantas, mas também produzindo húmus, disponibilizando nutrientes, produzindo metabólitos e enzimas, detoxificação de contaminantes, agregação do solo e contribuição no crescimento e desenvolvimento das plantas). Tudo isso garante a recuperação da área (ALLEN, 1989).

4.4. Fabaceae na revegetação de áreas degradadas

A família Fabaceae possui grande importância econômica, inúmeras espécies são utilizadas como alimentos, além de serem amplamente distribuídas no mundo e de fácil adaptação (FRANCO et. al., 2017).

Sabe-se que o Brasil abriga grande parte dessa biodiversidade de leguminosas, apresentando 2.848 (FLORA DO BRASIL, 2018) do total de 19.325 (LEWIS et. al., 2005)

espécies existentes. Cerca de 1.144 espécies de leguminosas já foram descritas na Amazônia, 1.260 no Cerrado, 611 na caatinga, 158 nos pampas, 166 no pantanal e 1.004 na Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2018). Essa família está presente tanto em ambientes preservados quanto em perturbados (MOREIRA et. al., 2008).

De forma geral, os elementos nitrogênio (N) e fósforo (P) são considerados os mais limitantes para o desenvolvimento de plantas (SIQUEIRA & FRANCO, 1988), além da própria água. Nessa relação, as bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) pertencentes ao grupo dos rizóbios fornecem N de forma que as plantas possam utilizar, enquanto que essas contribuem fornecendo fotoassimilados para esses microrganismos. A diversidade de bactérias que nodulam plantas da família Fabaceae pode ser devido à própria diversidade entre as espécies hospedeiras, mas também tem relação com o genótipo dos organismos envolvidos e do ambiente, que é capaz de alterar a expressão dos genes (MOREIRA et. al., 2008). A capacidade de formação de nódulos em leguminosas ainda não é conhecida em cerca de 75% das espécies, o que mostra que muita pesquisa ainda pode ser realizada nessa área (MOREIRA et. al., 2008).

As leguminosas também podem estabelecer associações simbióticas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), como mencionado anteriormente. Nessa relação, as plantas proporcionam açúcares como fonte de energia para os microrganismos por meio da fotossíntese, então esses absorvem nutrientes e água do solo para esses vegetais (VENTURIERI, 2013). O fungo micorrízico expande a área de absorção da raiz, promovendo maior acúmulo de água e fósforo para a planta. Consequentemente, a planta adquire maior biomassa e o solo tem sua qualidade melhorada (ALEXANDRE et. al., 2012), proporcionando recuperação ambiental a longo prazo (FRANCO et. al., 2000).

As leguminosas são consideradas espécies facilitadoras, isso se deve a característica de pioneirismo na sucessão ecológica, e por isso são muito utilizadas na revegetação de áreas degradadas. Além de fazerem simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e também com FMA (NOGUEIRA et. al., 2012; EMBRAPA, 2017).

4.4.1. *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze

O gênero *Mimosa* abrange 500 espécies, sendo por isso bem amplo, sendo que a maioria delas está no continente americano, principalmente no Brasil. Além da Mata Atlântica, também podem ser encontradas nos biomas Cerrado e Caatinga, mas a sua maioria está no primeiro (EMBRAPA, 2006).

Dentre as espécies de plantas leguminosas presentes no PAERV, a *Mimosa bimucronata* também conhecida como maricá, é uma espécie nativa da Mata Atlântica e já foi encontrada do estado da Paraíba ao Rio Grande do Sul (SILVA et. al., 2011), além de estar presente no PAERV (FERREIRA et. al., 2009). É uma árvore pequena e que costuma viver em locais úmidos (RAMBO, 1966), porém pode ser encontrada também em restingas e caatingas (LORENZI, 2002). Já foi utilizada em experimentos com solos argilosos e areno-argilosos e bem drenados e obteve um bom crescimento (MARCHIORI, 1993). Essa espécie é arbórea, se reproduz por sementes, é extremamente ramificada e espinhosa (LORENZI, 2000) (Fig. 3).



FIGURA 3. Inflorescências de *M. bimucronata*. Fonte: BINFARÉ et. al. (2016).

A espécie *M. bimucronata* costuma ser utilizada para revegetação de áreas degradadas, por ser pioneira na sucessão florestal (MARCHIORI, 1993), utilizada como abrigo para outras espécies de plantas e de animais (BITENCOURT et. al., 2007), muito adaptável as condições edáficas de ambientes de restinga e de crescimento rápido (REITZ et. al., 1983), além de sua reprodução por estacas (BRAGA, 1960 *apud* MARCHIORI, 1993). Quanto à simbiose com microrganismos, existem resultados positivos entre essa espécie e de certas linhagens de bactérias. Alguns estudos já sugeriram que essa planta tem facilidade em realizar simbiose com BFN, onde algumas conseguiram promover o crescimento da espécie (PATREZE, 2003; ARAÚJO et. al., 2017; CANEI, 2017; FREIRE, 2017). Em relação à simbiose com fungos micorrízicos em condição axênica não foram comprovados efeitos sobre a leguminosa, porém em co-inoculação de rizóbios com FMA (espécies não citadas), a planta teve sua nodulação e crescimento favorecidos (PATREZE, 2003).

4.5. Rizóbios: caracterização e funções

O nitrogênio representa cerca de 78% da composição do ar atmosférico. Esse elemento é essencial para todas as formas de vida, pois faz parte da estrutura dos aminoácidos, e também da síntese da clorofila (ANDRADE et. al., 2003). Está envolvido nas enzimas do metabolismo do carbono e de proteção contra danos oxidativos (BECANA et. al., 2010). As plantas por serem produtoras primárias, transferem esse nutriente ao longo da cadeia alimentar (para herbívoros, carnívoros, decompositores) (AGEITEC, 2017). Porém nem os vegetais nem os animais são capazes de captá-lo da atmosfera e transformá-lo em uma forma assimilável (de N_2 em NH_3), por causa da ligação extremamente forte entre os átomos de N (EMBRAPA, 2006). Entretanto, graças à fixação biológica do nitrogênio realizada pelas bactérias fixadoras desse nutriente, é possível disponibilizar o N necessário para as plantas, e consequentemente permitir que exista vida na Terra.

Os fixadores de nitrogênio, também chamados de diazotróficos, podem viver livremente no solo e em ambientes aquáticos ou em associação simbiótica com outros organismos. Na simbiose com os organismos do reino Plantae, garantem a fixação em NH_3 pela bactéria e o CO_2 é fixado em carboidratos, através da fotossíntese realizada pelas plantas e para esses microrganismos (MOREIRA et. al., 2008).

O primeiro isolamento de BFN do interior de nódulos foi feito por Beijerinck em 1888, cuja espécie ele chamou de *Bacillus radicicola*. Depois seu nome foi substituído por *Rhizobium leguminosarum*. As bactérias que nodulam leguminosas (BNL) foram primeiramente classificadas como pertencentes ao filo *Proteobacteria*, classe α -*Proteobacteria*, baseadas na taxonomia com a utilização de relações filogenéticas entre bactérias (WOESE, 1987) e uso dos relógios moleculares ou “cronômetros moleculares” (KIMURA, 1983). Porém, no início do século XXI, os gêneros *Burkholderia*, *Ralstonia* (*Cupriavidus*), *Methylobacterium* e *Blastobacter* (depois reclassificado como *Bradyrhizobium*), todos pertencentes à classe β -*Proteobacteria*, foram descobertos e notou-se que esses possuíam capacidade de nodular leguminosas e fixar N (MOULIN et. al., 2001; VAN BERKUN & EARDLY, 2002). A descrição de espécies microbianas envolve a análise do DNA dos microrganismos envolvidos, embora existam limitações nessas técnicas (ROSSELÓ-MORA & AMANN, 2001).

Sugere-se que as bactérias mais importantes sejam essas citadas que são capazes de nodular leguminosas (BNL), também conhecidas como rizóbios (STOCCO et. al., 2008), já

que essa família possui um alto valor socioeconômico e nesse caso a simbiose tem grande eficiência, dessa forma pode ser utilizada para aumentar a produção agrícola sem impactar o ambiente (MOREIRA et. al., 2008). A utilização da designação “rizóbio”, que primeiramente envolvia todas as bactérias que nodulam leguminosas, veio da família Rhizobiaceae que agrupava todas as espécies dessas bactérias (JORDAN, 1984). Porém, com a descoberta de outras famílias contendo esses microrganismos, o nome “rizóbio” se tornou inapropriado, mas ainda é muito utilizado (MOREIRA et. al., 2008).

Existe uma grande diversidade de rizóbios com capacidade de nodular as leguminosas arbóreas com contribuição significativa no fornecimento de N (LOUREIRO et. al., 1993). Entretanto, a maioria dos estudos realizados são com leguminosas de interesse agrícola, especialmente pertencentes à subfamília Papilionoideae de regiões temperadas (MOREIRA et. al., 2008). Grande parte das relações simbióticas com bactérias que nodulam leguminosas acontecem nas raízes, porém existem algumas espécies que formam nódulos nos caules como *Sesbania rostrata*, *Aeschynomene* spp. e *Discolobium* spp., mais especificamente no Brasil, somente as espécies de *Aeschynomene* e *Discolobium* foram descritas formando nódulos nos caules (LOUREIRO et. al., 1994, 1995).

Um fator que interfere na simbiose de BNL e no crescimento do vegetal é o fósforo (P). Já foi observado que quando inseridas em solos com baixa disponibilidade de P, as micorrizas não conseguem suprir as quantidades desse que uma planta precisa para o seu próprio crescimento. Mas assim que o nutriente é disponibilizado, a inoculação com as micorrizas e com as BNL melhoram também o fornecimento de micronutrientes, entretanto, as respostas são diferentes para cada espécie de planta (FRANCO & DAY, 1980; FULLIN et. al., 1999). O pH de solos tropicais tende a ser ácido. Por isso, os microrganismos que vivem nesses locais devem ser adaptados a essa condição. Já foi observado que algumas espécies de plantas da família Fabaceae arbóreas que vivem na Amazônia, formam mais nódulos em pH aproximado de 4,0 (MAGALHÃES & BLUM, 1984). Alguns estudos (KAHINDI et. al., 1997; HUNGRIA & VARGAS, 2000; GIONGO et. al., 2008) sugerem que as características do solo e a espécie hospedeira interferem na capacidade das BNL de tolerar a acidez, isso significa que quando isoladas essas estirpes de solo ácido irão crescer melhor em um meio de cultura que também o seja, mesmo que já tenham sido mostrados resultados eficientes com estirpes de pH ácido em pH neutro (SOUZA et. al., 1984).

Existe uma lista de estirpes que tiveram resultados altos em testes e que são recomendadas como inoculantes em 109 espécies de leguminosas. Para a espécie *M. bimucronata*, os rizóbios recomendados são *Bradyrhizobium* sp. (SEMIA 6386) e

Burkholderia nodosa (SEMIA 6421) (DDPA, 2017) (MOREIRA et. al., 2008). Assim como na lista de estirpes recomendadas o gênero *Burkholderia* aparece para 10 espécies de leguminosas, que são: *Acacia decurrens* (MOREIRA et. al., 1993), *Mimosa acutistipula*, *M. bimucronata*, *M. caesalpiniiifolia*, *M. flocculosa* (CHEN et. al., 2005), *M. scabrella* (CHEN et.al., 2006), *Parapiptadenia rigida* (MOREIRA et. al., 1998).

A *M. bimucronata* já foi descrita em associação com os gêneros de BFN, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* e *Ralstonia* (MOREIRA et. al., 2008).

Em um trabalho no qual Canei (2017) testou a estirpe de *Bradyrhizobium* sp. (UFSC-R155), na leguminosa *M. bimucronata* esse se mostrou eficiente na fixação de N, além de gerar um aumento na massa seca da parte aérea e da raiz e no número de nódulos.

Em um trabalho realizado por Moura e colaboradores (2016), o qual testou rizóbios isolados de áreas com mineração de carvão em associação simbiótica a três leguminosas (*Mimosa scabrella*, *M. bimucronata* e *Parapiptadenia rigida*). Verificou-se que para a espécie *M. bimucronata*, os rizóbios aumentaram seu crescimento, nodulação e acúmulo de N.

4.6. Fungos micorrízicos arbusculares: caracterização e funções

Os fungos fazem parte do Reino Fungi e são seres eucarióticos, podem estar associados a simbioses e patogenias (GUIMARÃES, 2017), além de estarem ligados a decomposição da matéria orgânica (ABELHO et. al., 2005).

As micorrizas são associações simbióticas entre fungos e plantas, podendo ser divididas em sete tipos: ectomicorrizas, ectendomicorrizas, ericoides, arbutoide, orquidoide e arbusculares. Elas se diferenciam de acordo com os fungos e hospedeiros envolvidos, com as características anatômicas de associação, além do ambiente em que a simbiose ocorre com mais frequência (WARNER et. al., 1987; ALLEN, 1988).

Os fungos micorrízicos possuem um ciclo simbiótico com plantas, o qual começa com a ativação dos propágulos no solo, depois os esporos germinam e ocorre abundante crescimento micelial e formação de hifas e essas penetram as raízes suscetíveis à colonização. Em seguida, ocorre a formação dos arbúsculos e do simbiossoma (que é a fase em que ocorre a simbiose). Por último, ao final do ciclo, quando a simbiose atingiu certa maturidade os fungos esporulam (WARNER et. al., 1987; ALLEN, 1988).

Dentre as micorrizas, os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) fazem parte do filo Glomeromycota, são asseptados e colonizam as raízes de plantas de quase todos os gêneros de Gimnospermas e Angiospermas, mas também de algumas Briófitas e Pteridófitas. Esses fungos formam colonização intracelular do córtex, formação de hifas enroladas e outras profusamente ramificadas (arbúsculos) e micélio extra-radicular (Wang & Qiu, 2006).

Os Glomeromycota podem sobreviver sem fazerem parte de uma interação simbiótica, porém não conseguem esporular sem essa, por isso são chamados de biotróficos obrigatórios na natureza. A dispersão desses fungos pode ser através de vento (WARNER et. al., 1987; ALLEN, 1988), atividades humanas, plantas (WALKER, 1988), ingestão e liberação de excrementos de roedores, pássaros e minhocas do solo (SIQUEIRA et. al., 2007).

Na análise filogenética das plantas feita por Wang e Qiu (2006), confirmou-se que a origem das micorrizas arbusculares coincidiu com a das plantas terrestres. Por isso, esse fungo é ancestral e provavelmente teve papel muito importante na diversificação dessas (MALLOCH et. al., 1980). Sugere-se inclusive que a evolução desses vegetais só foi possível graças a essa associação (BRUNDRETT, 2002; ALLEN et. al., 2003), um fato que corrobora essa hipótese é que a maioria das plantas terrestres estabelece simbiose com esses fungos.

Na relação simbiótica entre o fungo e a planta, ocorre um constante fluxo de C fotoassimilado da planta para o fungo e de nutrientes inorgânicos absorvidos do solo do fungo para a planta (SIQUEIRA et. al., 2007). Outros benefícios que as micorrizas trazem para as plantas são: amenizar efeitos de pH e excesso de metais na absorção de nutrientes, produzir e acumular substâncias de crescimento, favorecer microrganismos benéficos como os fixadores de N, reduzir danos causados por patógenos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Além disso, os fungos garantem uma melhoria no crescimento do vegetal, aumento da tolerância dos vegetais às variações ambientais, podendo ser usados inclusive para controle de doenças em plantas, devido à sua estimulação para aumentar a expressão de genes que produzem proteínas ligadas à tolerância ao estresse. Considera-se inclusive que os FMAs sejam essenciais no estabelecimento de plantas em locais perturbados (FOLLI-PEREIRA et. al., 2012). Sabe-se também que plantas em associação a fungos micorrízicos absorvem mais de alguns nutrientes, principalmente aqueles que não costumam se mover ao longo do solo, como o P, o zinco e o cobre (CARDOSO & KUYPER, 2006). Os fungos também interferem na absorção de N (GOVINDARAJULU et. al., 2005), uma vez que suas hifas assimilam esse nutriente tanto na forma orgânica quanto na inorgânica e o transferem para a planta de forma que ela possa assimilá-lo (BERBARA et. al., 2006; SIQUEIRA et. al., 2007). Estudos têm demonstrado que os fungos correspondem de 5 a 20% do peso das raízes (GIANINAZZI-PEARSON, 1988

apud SIQUEIRA et. al., 2007) e cerca de 20 a 30% da biomassa microbiana total do solo (MILLER & KLING, 2000).

Sugere-se que a colonização dos FMAs nas raízes das plantas dependa de alguns fatores: quantidade, tipos e estado fisiológico dos propágulos dos fungos; Assim como as condições físicas, químicas e biológicas do solo; As características de maturação e dormência dos esporos do fungo, a relação carbono/fósforo na planta hospedeira e a suscetibilidade das raízes á presença do fungo (ABBOTT & GAZEY, 1994). Alguns fungos mostraram também terem sua colonização afetada diretamente graças ao decréscimo da temperatura do solo e menor luminosidade (BELL et. al., 2003).

Os FMAs têm ocorrência muito generalizada com relação a hospedeiros e ambientes e não possuem especificidades. Realizam importante função para a recuperação de áreas degradadas e isso se deve aos vários benefícios proporcionados ao hospedeiro, facilitando a revegetação e a sucessão vegetal. Apesar disso, são representados por mais de 215 espécies de fungos (OEHL et. al., 2011), porém ocorrem em mais de 200 mil espécies hospedeiras (SIQUEIRA et. al., 2007).

As micorrizas são utilizadas na recuperação de áreas degradadas principalmente por ocorrerem nas plantas e ambientes em geral, favorecerem a atividade fotossintética e o aporte de matéria orgânica, melhorarem a nutrição e a tolerância a estresses ambientais e facilitarem a cobertura vegetal, contribuir para a agregação do solo, favorecerem o acúmulo de nutrientes na fitomassa, gerarem maior proteção ao solo, tornarem mais fáceis as relações tróficas, estimularem a transformação e ciclagem dos nutrientes, favorecerem a estruturação e sucessão vegetal. Já foram descritas 38 espécies diferentes de FMAs em ambientes degradados, com a maioria pertencente às famílias Glomeraceae e Gigasporaceae (SIQUEIRA et. al., 2007).

Algumas espécies do gênero *Mimosa* (*M. bimucronata* e *M. scabrella*) foram estudadas com relação ao efeito da micorrização para revegetar áreas degradadas, assim como o fungo *Glomus* ou *Rhizophagus intraradices*, onde foi avaliada a ocorrência e o efeito para o mesmo objetivo (SIQUEIRA et. al., 2007).

Em um trabalho realizado por Stoffel e colaboradores (2016), foram testadas inoculações de FMAs (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora morrowiae*, *Dentiscutata heterogama*, *Rhizophagus clarus* e *Rhizophagus irregularis*) em três espécies de leguminosas (*Mimosa scabrella*, *M. bimucronata* e *Paraipadenia rigida*) com solo contaminado por rejeito de carvão. Nesse, observou-se que os fungos reduziram a absorção de elementos-traço,

além de aumentarem a absorção de fósforo, cobre, zinco, arsênio e cromo. Esses benefícios levaram a melhora no crescimento dos vegetais inoculados.

4.7. Potencial de co-inoculação de microrganismos

Sabe-se que a utilização de plantas com microrganismos na recuperação de solos degradados ajuda muito na aceleração desse processo (Fig. 4 e 5). Esses vegetais fixam o carbono através da fotossíntese e formam a serapilheira que ajuda nessa ligação da atmosfera com o solo, isso envolve produtores e consumidores, predadores, heterotróficos e simbiossiontes (WARDLE et. al., 2004). Assim que começa a ciclagem de nutrientes proporcionada pela decomposição sobre a serapilheira, o solo degradado vai se recuperando (SIQUEIRA et. al., 2008).

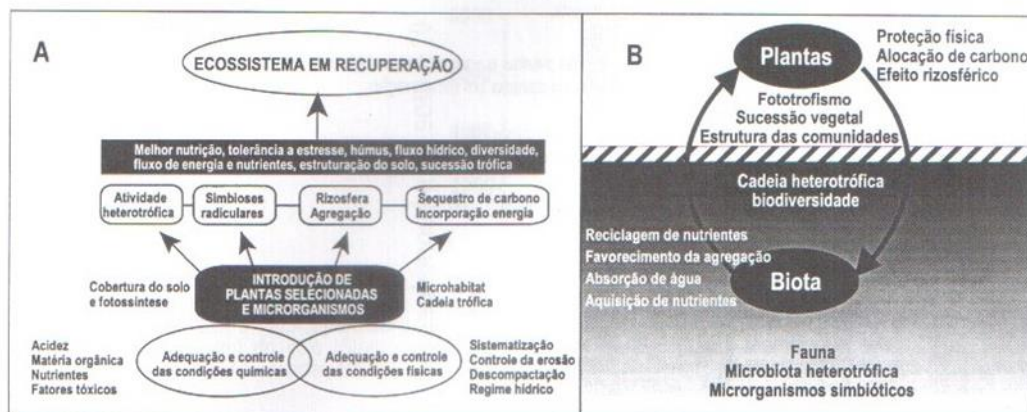


FIGURA 4. Processos de Recuperação da degradação do solo. A) Mecanismos. B) Os solos degradados submetidos à revegetação. Fonte: SIQUEIRA et. al. (2008).

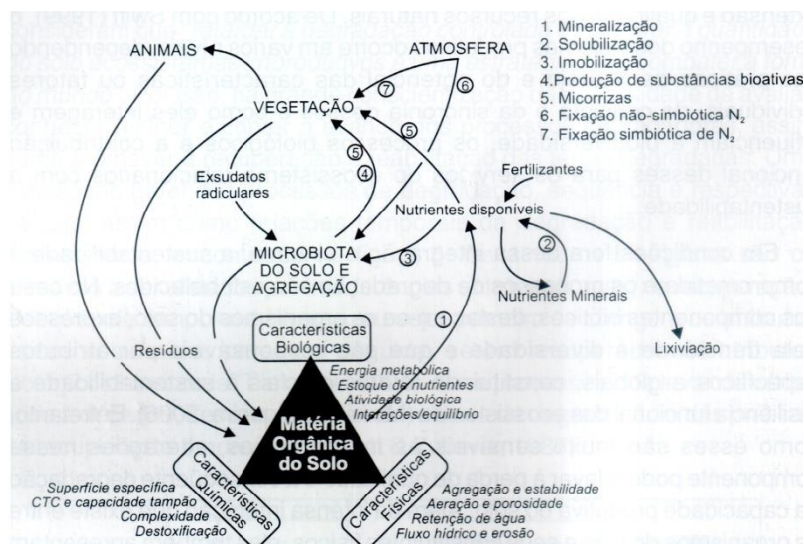


FIGURA 5. Principais características e componentes na recuperação de áreas degradadas. Fonte: SIQUEIRA et. al. (2007).

Para que ocorra a fixação biológica de N (FBN) há um gasto de energia e isso está relacionado à quantidade de nutrientes na planta, especialmente ao P, por ser um componente ligado ao metabolismo energético (VADEZ et. al., 1997). Nos solos tropicais, esse nutriente não é encontrado em grandes quantidades, o que o coloca como fator limitante para o crescimento de leguminosas, mas também para a sua nodulação e consequentemente para a fixação do N (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Por isso, as micorrizas beneficiam indiretamente as bactérias que nodulam e fixam N nas leguminosas, especialmente em locais onde o P esteja pouco disponível no solo (SILVA-JÚNIOR & SIQUEIRA, 1998; MOREIRA et. al., 2008), além de aumentar a produção de raízes e a fotossíntese, tudo isso gera um aumento na nodulação dessas plantas (FRANCO et. al., 1995). Mas também atuam na disponibilidade de N para a planta dado pelas bactérias nodulíferas, garantem um maior vigor do vegetal e isso beneficia a micorriza, já que isso permite uma maior oferta de fotoassimilados (CARVALHO & MOREIRA, 2010). A introdução de leguminosas noduladas e micorrizadas na recuperação de áreas degradadas já é de bastante sucesso (FRANCO et. al., 1995; FRANCO & BALIEIRO, 2000).

Em um experimento testado com a co-inoculação de rizóbio e FMA (*G. clarum* e mistura de fungos) em *Mimosa caesalpiniaefolia*, foi demonstrado que os microrganismos geraram um estímulo no crescimento da planta. Os vegetais em co-inoculação apresentaram valores significativos nos parâmetros crescimento, altura, área foliar, atividade da enzima nitrogenase, porcentagem de colonização micorrízica, além de favorecerem a nodulação das bactérias (BURITY et. al., 2000; PRALON & MARTINS, 2001).

Está descrito na literatura que quando a planta vive em um ambiente com altos níveis de P e N, o vegetal tende a regular negativamente essas simbioses, já que essa interação gera um custo considerável de carbono fotoassimilado para o vegetal. Ou seja, se a planta estiver em solo rico em N e em P, essa não fará associação simbiótica com FMA e BFN. (CATFORD et. al., 2003).

Em um estudo feito por Mortimer et. al. (2008), para avaliar o poder de dreno de cada simbionte em diferentes níveis de P, observou-se que plantas co-inoculadas a baixos níveis de P tinham valores mais altos de taxa fotossintética, custo de produção de biomassa e consumo de O₂ pela raiz. De acordo com esse trabalho, a micorriza foi o principal dreno de fotoassimilados na raiz e isso gerou um atraso momentâneo na nodulação. Estima-se que esse atraso seria para que o fungo pudesse se estabelecer e a planta ter um aumento na nutrição de

P, o que iria beneficiar a nodulação e o vegetal, e que seria compensado em estágios posteriores pela maior nutrição de P pelas plantas.

A simbiose que ocorre entre a planta, a BFN e a micorriza ou simbiose tripartite depende de alguns fatores. O primeiro é o genótipo da planta hospedeira, verificada e corroborada por alguns estudos (LESUEUR & DUPONNOIS, 2005; MEGHVANSI et. al., 2008). O segundo é a idade da planta e o sistema de plantio (SIVIERO et. al., 2008). O terceiro é a compatibilidade funcional entre a bactéria e o fungo. Sabe-se por meio de vários estudos que algumas combinações entre microrganismos podem gerar um efeito nulo ou antagônico, ao invés do positivo, na mesma planta (AMES & BETHLENFALVAY, 1987; AZCÓN et. al., 1991). Existem casos de sinergismo onde a relação com FMA e rizóbio gera efeitos negativos (JAYAKUMAR & TAN, 2005a,b). As propriedades químicas do solo também podem regular a simbiose tripartite. Essa regulação se dá através das quantidades de N e P, porém a quantidade ideal depende da espécie da planta, da micorriza e da BFN (MORTIMER et. al., 2008). Outro fator regulador da simbiose tripartite são as propriedades físicas do solo. Vários estudos já concluíram que a perturbação do solo traz efeitos negativos para essa interação (GOSS & DE VARENNES, 2002). Adicionalmente a textura e o tipo de solo podem influenciar nessa relação (MERGULHÃO et. al., 2001; DUPONNOIS et. al., 2008). O último fator documentado de regulação da simbiose tripartite é a própria biota rizosférica. A diversidade microbiana é alterada graças aos compostos orgânicos depositados pela planta na rizosfera, gerando um aumento na atividade e quantidade dos microrganismos se comparado ao solo não rizosférico (SINGH & MUKERJI, 2006).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Área de coleta do solo

O solo que foi utilizado nesse experimento foi coletado em julho de 2017, em uma área de restinga do PAERV (Fig.6) a 27°32'29.36" Sul e 48°26'54.503" oeste, a qual apresenta intensa ocorrência de *Pinus* spp., com uma camada espessa de acículas e ausência de sub-bosque e de formações vegetais nativas devido à presença intensa de pinus. O solo foi coletado de um único lugar na camada de 0 a 20 centímetros após a retirada das acículas, e em seguida peneirado em malha de dois milímetros. Posteriormente, o solo foi esterilizado em autoclave por uma hora a 120 °C (duas vezes em um intervalo de quinze dias). Procedimento repetido por mais duas vezes devido à suspeita de contaminação do solo por fungos endofíticos e mantido em repouso por dois meses (para atingir o equilíbrio de suas características químicas).

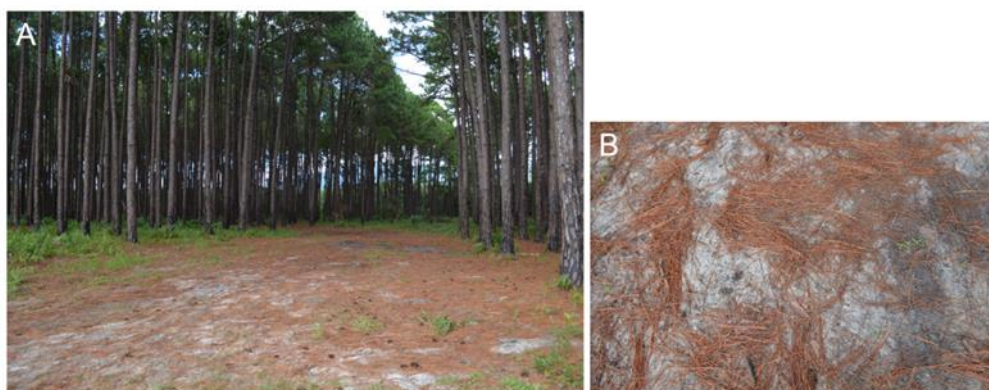


FIGURA 6. Parque Estadual do Rio Vermelho. A) Área de restinga seca totalmente descaracterizada pela presença do *Pinus* sp. B) Grande quantidade de acículas no solo. Fonte: CANEI (2017).

Nas análises químicas do solo realizadas por CANEI (2017) mostraram que o solo coletado da área de restinga do PAERV utilizado nesse experimento possui um pH ácido (Tabela 1).

TABELA 1. Atributos físico-químicos de amostras de solo coletadas na Restinga Seca (RS) do PAERV, Florianópolis, SC. Fonte: CANEI (2017).

Atributos químicos do solo					
MO (g kg ⁻¹)	P (mg Kg ⁻¹)	pH H ₂ O	Ca (cmolc kg ⁻¹)	Mg (cmolc kg ⁻¹)	K (cmolc kg ⁻¹)
23,9	0,76	4,65	1,94	0,48	0,01
Al (cmolc kg ⁻¹)	H+Al (cmolc kg ⁻¹)	CTC	CTCef	Al%	V%
0,04	3,71	6,18	2,47	1,72	39,26
Textura, g kg ⁻¹					
Areia		Silte		Argila	
971		10		19	

Em que: MO = matéria orgânica, P = fósforo, Ca = cálcio, Mg = magnésio, K = potássio, Al = alumínio, CTC = capacidade de troca de cátions, CTCef = CTC efetiva, V% = saturação por bases.

5.2. Material biológico empregado

5.2.1. Leguminosa arbórea

As sementes do maricá foram adquiridas com a FEPAGRO – RS. Após o período de pré-germinação em que ficaram em câmara úmida (depois de desinfetadas com hipoclorito de sódio a 2% por dois minutos e lavadas seis vezes em água destilada autoclavada conforme consta em GARSABALL & CUEVAS, 2006), elas foram plantadas nas condições descritas abaixo (item 5.3).

5.2.2. Rizóbios autóctones do PAERV e FMA

Os rizóbios usados no presente trabalho (UFSC-R141 e UFSC-R155) pertencem ao Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal de Santa Catarina. Esses foram obtidos de uma área de restinga do PAERV por meio de isolamentos e seleções realizados por Canei (2014). Essas bactérias foram identificadas como UFSC-R141 *Burkholderia taichungensis* e UFSC-R155 *Bradyrhizobium* sp.

No presente trabalho foi utilizado também um inoculante comercial (Rotella Br–NovaTero) a base de um FMA (*Rhizophagus intraradices*).

5.3. Condução experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, sendo um delineamento inteiramente casualizado (DIC), compostos por dez tratamentos, sendo sete deles inoculados: FMA; UFSC-R141; UFSC-R155; UFSC-R141 + UFSC-R155; UFSC-R141 + FMA; UFSC-R155 + FMA; UFSC-R141+ UFSC-R155 + FMA, e três tratamentos controles: um tratamento com alto teor de N inoculado com FMA (CN+FMA) e dois tratamentos controles sem inoculação, um com baixo (NI) e alto teor de N (CN). Cada tratamento foi composto por cinco repetições, totalizando 50 unidades amostrais.

O experimento teve duração de seis meses de verão, durante os quais (2 X na semana) os tratamentos inoculados e o controle sem N receberam solução nutritiva com baixo teor de N de Hoagland e Arnon (1950) modificada (5,35 mg de N), e os demais tratamentos receberam a mesma solução, mas com alto teor de N (52,535 mg de N). Nos demais dias, as plantas receberam cinco mililitros de água destilada e esterilizada.

O experimento foi montado em tubetes com capacidade de 280 cm³ contendo solo estéril, onde as sementes da espécie *M. bimucronata* foram plantadas. Previamente as sementes foram desinfetadas, sem necessidade de quebra de dormência, e colocadas para pré-germinar em estufa a 28°C. Em seguida, foi adicionado 1mL dos isolados (UFSC-R141 e UFSC-R155) de acordo com o tratamento. Esses foram crescidos previamente em meio YM a 28 °C e padronizados a 0,5 de densidade ótica (DO) em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. Já para o inoculante micorrízico, adicionou-se um grama, o equivalente a 2.500 propágulos, também de acordo com o tratamento.

Após a semeadura e aparecimento do cotilédone, foi aplicada uma camada fina de areia e parafina (10 kg de areia esterilizada, 900 mL de clorofórmio e 10 g de parafina) e colocada uma ponteira estéril de 1,5 mL, por onde foi realizada a aplicação de água e solução nutritiva nas plantas, reduzindo assim a área de exposição do tubete a possíveis contaminações pelo ar ou por insetos.

Ao final dos seis meses, foi feita a desmontagem dos experimentos, verificando a compatibilidade simbiótica dos rizóbios por meio da formação dos nódulos no sistema radicular e, em seguida, realizada a contagem dos nódulos presentes. Os nódulos foram secos em estufa até massa constante e ao final foi determinado o valor de massa. Avaliou-se também a altura das plantas através da medição em centímetros do solo até o último par de folhas com a utilização de uma trena. O diâmetro do caule foi medido com um paquímetro na altura do solo. A massa seca da parte aérea (MSPA) e a massa seca da raiz (MSR) foram

separadas mediante altura que se destacava do solo, mantendo-as em estufa a 65 °C até massa constante e em seguida pesadas, em gramas, com o uso de uma balança digital. O teor foliar de N e P por meio de digestão nitroperclórica depois da massa aérea moída, sendo que o de N foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl (SARRUGE & HAAG, 1979) e o de P por colorimetria (TEDESCO et. al., 1995). Para avaliação da colonização micorrízica nas raízes, foi utilizado o método de coloração azul com Tripán (KOSKE e GEMMA, 1989), seguido de porcentagem de colonização de Phillips e Hayman (1970) modificado por Koske e Gemma (1989). Já a contagem do número de esporos do FMA segundo Gerdemann e Nicolson (1963).

5.4. Análises estatísticas

Após essas avaliações, foram feitas as análises dos dados por meio da utilização de testes estatísticos já utilizados em outros trabalhos. Esses foram submetidos ao Teste de Bartlett para avaliação da homogeneidade e após um teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Em seguida foi realizada a análise de variância a 5% de probabilidade e submetidos a um teste de separação de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade. O número de nódulos, massa seca de nódulos, colonização micorrízica e número de esporos sofreram transformação por raiz quadrada, e teor de P por raiz quadrada+1.

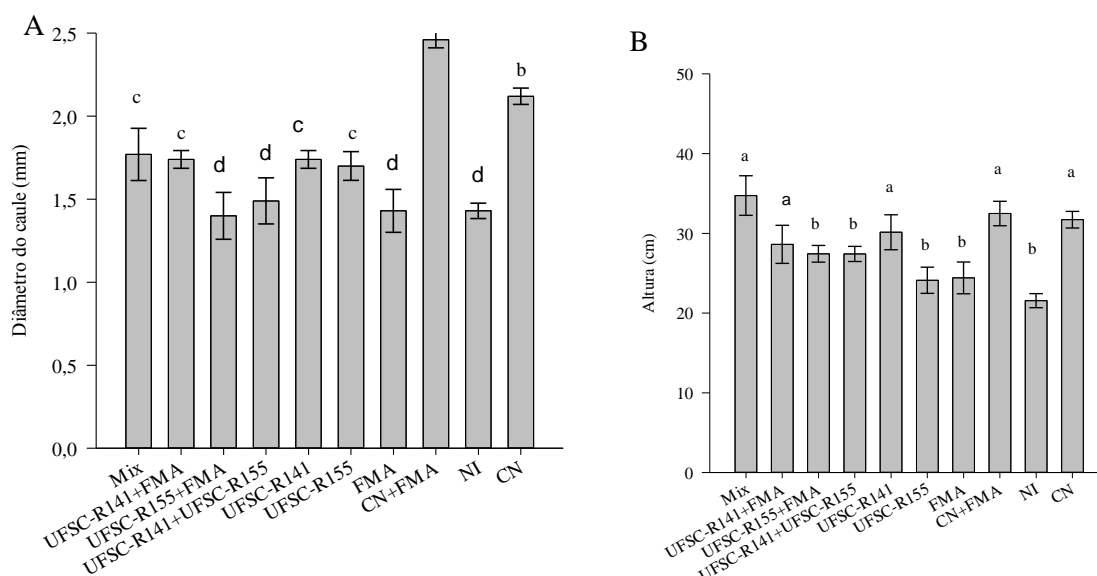
6. RESULTADOS

6.1. Efeitos da co-inoculação de microrganismos no crescimento de *M. bimucronata*

Para todas as variáveis, exceto teor e acúmulo de P, os maiores valores foram obtidos nos tratamentos com alto teor de N (CN) e CN+FMA.

Com relação ao diâmetro do caule (Fig.7A), os maiores resultados para os tratamentos inoculados foram obtidos com o Mix com os três microrganismos (UFSC-R141+UFSC-R155+FMA), o UFSC-R141+FMA, o UFSC-R141 e o UFSC-R155 mostraram um aumento médio de 21,50% em relação ao tratamento controle sem inocular (NI). Na altura, os tratamentos que mais influenciaram no crescimento da *M. bimucronata* foram o Mix, o UFSC-R141+FMA e o UFSC-R141 (Fig.7B), e apresentaram 44,56% de incremento na altura em relação ao tratamento controle não inoculado (NI) e não diferiram estatisticamente dos tratamentos controle (CN e CN+FMA).

Para massa seca da raiz (MSR) (Fig.7C), o maior resultado dos tratamentos inoculados foi obtido com o tratamento FMA, porém não diferiu estatisticamente dos tratamentos controles (NI, CN, CN+FMA). O tratamento Mix e o UFSC-R141+FMA apresentaram os maiores resultados para massa seca da parte aérea (MSPA) (Fig. 7D), média de 40,23% superior ao controle NI e não diferiram estatisticamente dos tratamentos controles (CN e CN+FMA).



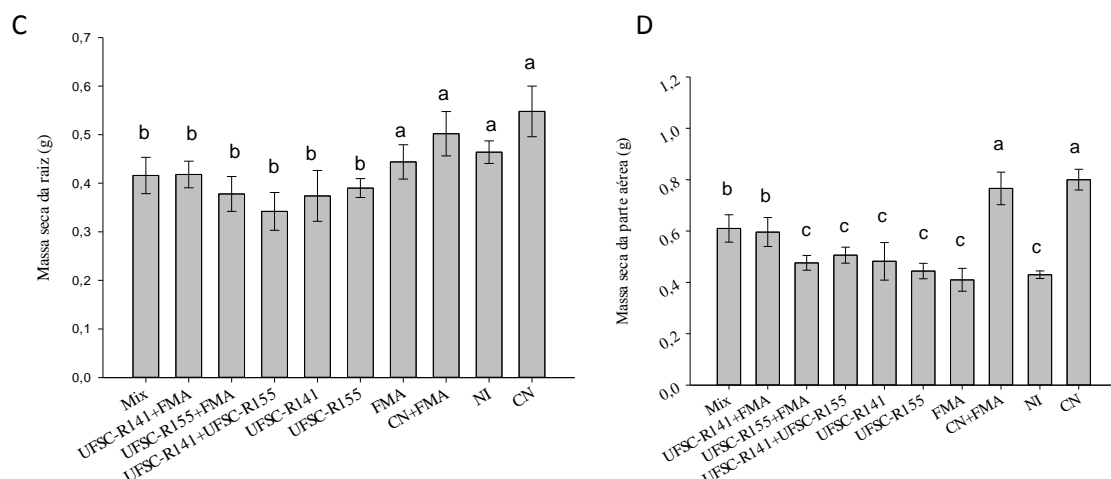


FIGURA 7. A- Diâmetro do caule (mm). B- altura (cm). C- Massa seca da raiz (g). D- massa seca da parte aérea (g) de *M. bimucronata* nos tratamentos inoculados com as bactérias (UFSC-R141 e UFSC-R155) e com o FMA e controles com alto teor de nitrogênio + FMA (CN+FMA), alto teor de nitrogênio (CN) e com baixo teor de nitrogênio (NI). O mix é o tratamento com ambas as bactérias e com o fungo. Todos os tratamentos aparecem com as letras obtidas no teste Scott-Knott a 5%. As barras verticais representam o erro padrão médio de cada tratamento.

6.2. Efeitos da co-inoculação de microrganismos no teor e acúmulo de N e P em *M. bimucronata*

Com relação ao teor de N (Fig.8A), os maiores valores foram obtidos com os tratamentos UFSC-R141+FMA, UFSC-R141+UFSC-R155 e UFSC-R141, com incremento médio de 416,76% em relação ao tratamento NI e não diferiram estatisticamente dos controles CN e CN+FMA. Para o acúmulo de N (Fig.8B), verificou-se que o tratamento UFSC-R141+FMA proporcionou incremento de 199,84% em relação ao tratamento NI, não tendo diferença estatística em relação ao controle CN+FMA. Os demais tratamentos co-inoculados não diferiram estatisticamente do controle NI.

Para teor de P (Fig. 8C), os maiores valores foram dos tratamentos UFSC-R155+FMA, UFSC-R141+UFSC-R155 e FMA com média 11,39% maior que o NI e 52,19% maior que os controles CN e CN+FMA. Já no parâmetro acúmulo de P, os maiores valores foram obtidos nos tratamentos Mix, UFSC-R141+FMA, UFSC-R155+FMA e UFSC-R141+UFSC-R155, UFSC-R141 e FMA que mostraram um aumento médio de 42,42% sobre o controle NI e 182,71% maior que os tratamentos controles CN e CN+FMA.

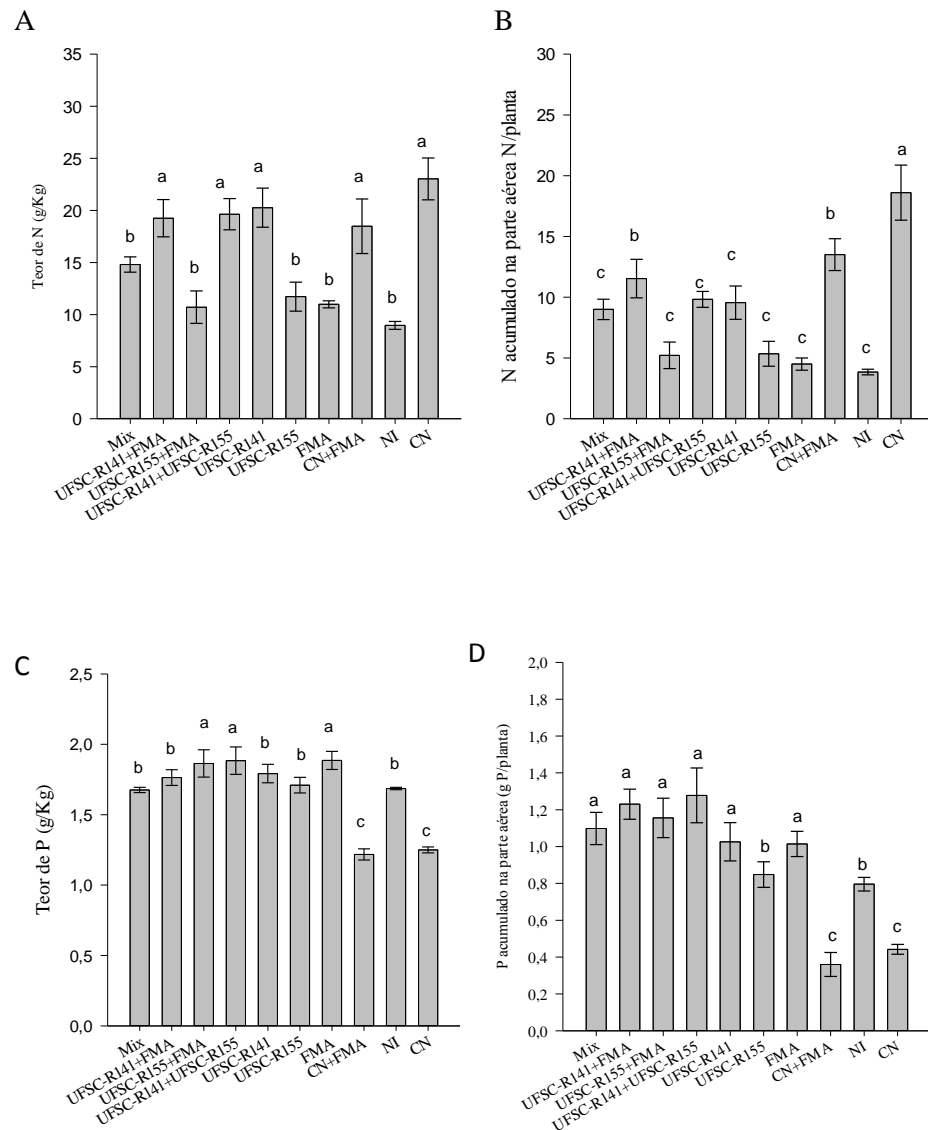


FIGURA 8. A- Teor de N (g/Kg). B-N acumulado (g N/planta). C- teor de P (g/Kg). D-P acumulado (g P/planta) de *M. bimucronata*. nos tratamentos inoculados com as bactérias (UFSC-R141 e UFSC-R155) e com o FMA e controles com alto teor de nitrogênio + FMA (CN+FMA), alto teor de nitrogênio (CN) e com baixo teor de nitrogênio (NI). O mix é o tratamento com ambas as bactérias e com o fungo. Todos os tratamentos aparecem com as letras obtidas no teste Scott-Knott a 5%. As barras verticais representam o erro padrão médio de cada tratamento.

6.3. Efeitos da co-inoculação de microrganismos na colonização e nodulação das raízes de *M. bimucronata*

Verificou-se que não houve colonização micorrízica, nem a presença de esporos, ou nódulos de FMA nos tratamentos controles (CN e NI) e nos demais tratamentos ue não tiveram a aplicação do inoculante micorrízico, o que evidencia que não houve contaminação

de FMA durante a condução experimental. Não se verificou diferença significativa entre os tratamentos de inoculação para colonização micorrízica e esporulação (Tabela 2). Para número de nódulos, os tratamentos Mix, UFSC-R141+FMA, UFSC-R155+FMA, UFSC-R141+UFSC-R155 e UFSC-R141 foram os maiores valores obtidos (Tabela 2). Porém, para MSN os tratamentos Mix, UFSC-R141+FMA, UFSC-R141+UFSC-R155 e UFSC-R141 foram semelhantes e não obtiveram diferenças estatísticas entre si (Tabela 2).

TABELA 2. Resultados das médias dos tratamentos para os parâmetros colonização micorrízica (%) nas raízes, número de esporos de FMA para 50 mL de solo, número de nódulos e massa seca de nódulos (mg) em *M. bimucronata* nos tratamentos inoculados com as bactérias (UFSC-R141 e UFSC-R155) e com o FMA e controles com alto teor de nitrogênio + FMA (CN+FMA), alto teor de nitrogênio (CN) e com baixo teor de nitrogênio (NI). O mix é o tratamento com ambas as bactérias e com o fungo. Todos os tratamentos aparecem com as letras obtidas no teste Scott-Knott a 5%.

Tratamentos	Colonização micorrízica (%)	Número de esporos/ 50 mL de solo	Número de nódulos	Massa seca de nódulos (mg)
MIX	23,91	4	191 a	83,86 a
UFSC-R141+FMA	22,78	5	262 a	78,56 a
UFSC-R155+FMA	16,79	4	74 b	29,54 b
UFSC-R141+UFSC-R155	-	-	271 a	77,26 a
UFSC-R141	-	-	258 a	67,10 a
UFSC-R155	-	-	24 b	16,90 b
FMA	24,06	6	-	-
CN+FMA	24,31	5	-	-
NI	-	-	-	-
CN	-	-	-	-

7. DISCUSSÃO

7.1. Efeitos da co-inoculação de microrganismos no crescimento de *M. bimucronata*

Em relação aos parâmetros de crescimento, o tratamento inoculado UFSC-R141+FMA foi o mais eficiente, exceto para massa seca da raiz. Em um trabalho realizado por Lammel et. al. (2015) em que foi testada a co-inoculação de alguns gêneros de bactérias fixadoras de nitrogênio (*Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* e *Xanthomonas*) com fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus*, *Paraglomus*, *Scutellospora* e *Racocetra*) em duas leguminosas, *Mimosa scabrella* e *M. bimucronata*, os resultados obtidos com as co-inoculação entre FMA + rizóbios favoreceram o incremento da massa seca da parte aérea nas leguminosas quando comparado ao controle não inoculado.

Lammel et al. (2015), observaram também a tolerância das estirpes do gênero *Burkholderia* (Ms316PF e Mb334RF) à acidez dos solos tropicais, e sugere-se que essas bactérias evoluíram junto com o gênero de leguminosa *Mimosa* (LAMMEL et. al., 2015) devido a sua eficiência simbiótica. Cabe ressaltar que assim como no presente trabalho, Lammel e colaboradores (2015) também obtiveram resultados positivos para esse gênero de bactéria em *Mimosa* em experimento com solo estéril, inoculação de culturas puras e em casa de vegetação e não em ambiente natural. Esse aspecto deve ser levado em consideração antes da implementação em larga escala, já que se sabe que esses microrganismos podem competir com outros que estejam presentes no solo, além da interferência de insetos e patógenos que podem ou não afetar a simbiose (PHILIPPOT et. al., 2013).

No trabalho de Stoffel et. al. (2016) em que foram avaliadas as inoculações com fungos micorrízicos arbusculares (*Acaulospora colombiana*, *Acaulospora morrowiae*, *Dentiscutata heterogama*, *Rhizophagus clarus* e *Rhizophagus irregularis*) em leguminosas (*M. scabrella*, *M. bimucronata* e *Parapiptadenia rigida*), observou-se que a inoculação de microrganismos favoreceu o crescimento da *Mimosa* spp. nos parâmetros altura e massa seca da parte aérea. Sugere-se que as justificativas para esse favorecimento sejam: maior absorção de água e de nutrientes favorecidos pela associação com FMAs (STOFFEL et. al., 2016). Corroborado também em estudo que testou *G. clarum* com mistura de fungos (*Glomus etunicatum*, *Acaulospora morrowae* e *A. longula*) e rizóbios (*Rhizobium* sp.) em *Mimosa*

caesalpiniaefolia, em que a presença dos microrganismos favoreceu os parâmetros de crescimento, especialmente altura (BURITY et. al., 2000; PRALON & MARTINS, 2001).

Em trabalho realizado por Taulé e colaboradores (2012) a presença de bactérias do gênero *Burkholderia* principalmente junto com *Cupriavidus* favoreceram o crescimento de *Parapiptadenia rigida* (planta também pertencente à família Mimosoidae) em comparação ao controle não inoculado. Esses microrganismos favoreceram os parâmetros diâmetro do caule e massa seca da parte aérea para a leguminosa citada, assim como foi observado no presente trabalho com o gênero *Burkholderia* para *M. bimucronata*.

7.2. Efeitos da co-inoculação de microrganismos no teor e acúmulo de N e P em *M. bimucronata*

Com relação aos parâmetros nutricionais, o tratamento UFSC-R141+FMA foi o mais eficiente, exceto para teor de fósforo, porém para análise de eficiência simbiótica é mais relevante a avaliação de acúmulo de nutrientes, multiplicação de teor por massa seca da parte aérea, do que somente o teor. Um dos motivos que justifica esse acúmulo de N nesse tratamento é o fato de já estar amplamente descrito na literatura que plantas em associação com rizóbios têm um aumento nesse nutriente devido a capacidade desses microrganismos de transformar o N atmosférico em N assimilável de forma eficaz (MOULIN et. al., 2001; VAN BERKUN & EARDLY, 2002), além das bactérias colaborarem na ciclagem de nutrientes, favorecendo absorção de N e de P (SIQUEIRA et. al., 2008), fator esse já corroborado em Canei (2017) pela maior absorção de N pela estirpe UFSC-R141 no maricá.

No trabalho de Lammel e colaboradores (2015) obteve-se um aumento na absorção de P em plantas que estavam inoculadas com bactérias do gênero *Burkholderia*. Além disso, sabe-se que a simbiose com fungos tende a favorecer a absorção de N principalmente em solos com pouco P (SILVA-JÚNIOR & SIQUEIRA, 1998; MOREIRA et. al., 2008), como era o caso do presente trabalho (Tabela 1), isso indiretamente afeta o próprio fungo pela maior oferta de fotoassimilados gerada pelo maior crescimento do vegetal (CARVALHO & MOREIRA, 2010).

As micorrizas também atuam no aumento da absorção de água e de nutrientes (SIQUEIRA & FRANCO, 1988; MARSCHNER & DELL, 1994; GOVINDARAJULU et. al., 2005; CARDOSO & KUYPER, 2006) especialmente devido a ampliação da área de absorção das raízes das plantas (FOLLI-PEREIRA et. al., 2012). Além disso, micorrizas em co-inoculação com rizóbios tendem a favorecer a absorção de N e outros nutrientes por esses

espécimes (BURITY et. al., 2000; PRALON & MARTINS, 2001; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; MORTIMER et. al., 2008), corroborado pelo estudo de Azcón (1991) com o fungo *Glomus* e a bactéria *Rhizobium meliloti*. Nesse estudo, Azcón (1991) mostrou que a co-inoculação desses microrganismos favoreceu a absorção de N na leguminosa *Medicago sativa* L., sugere-se que esse favorecimento tenha acontecido devido a estimulação da absorção de N mediada pela absorção de P causada pela micorriza.

7.3. Efeitos da co-inoculação de microrganismos na nodulação e colonização das raízes de *M. bimucronata*

A co-inoculação com a estirpe UFSC-R155 não teve a nodulação favorecida pela co-inoculação com o FMA, entretanto, não esse resultado não era esperado, uma vez que, os trabalhos anteriores com co-inoculação de rizóbios e FMAs favoreceram os fatores como a colonização micorrízica, número de esporos e nodulação (BURITY et. al., 2000; PRALON & MARTINS, 2001; LAMMEL et. al., 2015). Porém, esse experimento trabalhou com espécies diferentes e mistura de fungos e rizóbios, portanto essa combinação pode ter gerado uma competição entre os microrganismos. O benefício de bactérias do gênero *Burkholderia* em *Mimosa* já foi observado em um trabalho de Chen e colaboradores (2005) que analisou as espécies que formavam nódulos nessas plantas em diferentes tipos de ambiente. Nesse trabalho percebeu-se a preferência desse gênero de rizóbios por essas leguminosas especialmente na América do Sul.

Outros estudos que analisaram a co-inoculação de rizóbios e fungos perceberam que a presença do FMA gerava uma maior nodulação nas plantas em que estavam em associação (FRANCO et. al., 1995; FRANCO & BALIEIRO, 2000), o que não ocorreu no presente trabalho. Porém o resultado obtido com a co-inoculação da estirpe UFSC-R155+FMA, pode ser corroborado por outro estudo realizado por Mortimer e colaboradores (2008), em que foi testada a mesma espécie de fungo aqui presente (*Rhizophagus intraradices*) junto com rizóbios em *Phaseolus vulgaris*. Nesse trabalho o fungo gerou uma leve supressão dos nódulos e por isso a nodulação não aumentou nos tratamentos co-inoculados, o que pode ser a mesma justificativa para o resultado do presente experimento, sugerindo-se inclusive que esse seja um mecanismo da própria espécie de fungo.

No estudo de Taulé e colaboradores (2012), a presença da bactéria *Burkholderia* favoreceu a nodulação em *Paraptadenia rigida* assim como no presente trabalho, porém não

para *M. pudica*, o que poderia indicar a preferência desse microrganismo a algumas espécies de plantas ou pelas próprias características do solo, como pH (PIRES et. al., 2018). Além disso, em estudo de Chen e colaboradores (2007) que analisou as bactérias presentes nos nódulos de *M. bimucronata* e *M. scabrella*, essas foram encontradas e identificadas como sendo do gênero *Burkholderia* principalmente.

8. CONCLUSÃO

- ✓ Para os parâmetros de crescimento, o tratamento mais eficiente foi UFSC-R141+FMA, exceto para massa seca da raiz;
- ✓ Para os parâmetros nutricionais, o melhor tratamento também foi UFSC-R141+FMA, exceto para teor de P, porém o acúmulo é mais relevante na análise simbiótica do que esse fator;
- ✓ Para colonização micorrízica, não houve tratamentos mais eficientes, sendo todos com a presença de FMA igualmente eficientes;
- ✓ Para nodulação, todos os tratamentos que envolviam a bactéria UFSC-R141 foram igualmente eficientes.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se repetir as co-inoculações com os tratamentos de maiores valores, *Burkholderia taichungensis* e *Rhizophagus intraradices*, na mesma leguminosa aqui analisada, *Mimosa bimucronata*, porém em condições não estéreis para testar a relação desses microrganismos com outros que eventualmente estarão presentes na microbiota do solo. A repetição dessa co-inoculação em outras leguminosas nativas e também o teste a campo poderiam trazer mais informações sobre essa simbiose tripartite e o quão eficiente essa seria em diversos locais com a presença do solo de restinga.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, L. D. & GAZEY, C. An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry. Dordrecht, **Kluwer Academic Publishers**: 1994, p. 299-352.
- ABELHO, M. et.al. Microbial biomass, respiration and decomposition of *Hura crepitans* L. (Euphorbiaceae) leaves in a tropical stream. **Biotropica**, 37: p. 397-402.
- ABREU, G. A. **Os impactos ambientais da expansão das monoculturas de árvores exóticas e a sustentabilidade de comunidades rurais do Rio Grande do Sul, Brasil**. Porto Alegre, 2006, 37 p.
- AGEITEC. Fixação Biológica do Nitrogênio. Brasília. **EMBRAPA**. Disponível em http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_31_711200516717.html Acesso em 19 de maio de 2017.
- ALEXANDRE, Juliana R. et. al. Zinco e Ferro: De micronutrientes a contaminantes do solo. **Natureza online**. 2012, p. 23. Disponível em http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/05_AlexandreJRetal_023028.pdf Acesso em 5 de maio de 2017.
- ALFAIA, S. S. et. al. Efeito da aplicação de calcário e micronutrientes em latossolo amarelo da Amazônia Central. **Acta Amazonia** 18: 1988. p. 13-25.
- ALLEN, E. B. et. al. Impacts of early and late-seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. **Ecol. Appl.** 13: 2003, p. 1701-1717.
- ALLEN, M. F. Mycorrhizae and rehabilitation of disturbed arid soils: processes and practices. **Arid Soil Res.** 3: 1989, p. 229-241.

ALLEN, M. F. Re-establishment of VA mycorrhizas following severe disturbance: comparative patch dynamics of a shrub desert and a subalpine volcano. **Proc. R. Soc.** **94**: 1988, p. 63-71.

AMES, R. N. & BETHLENFALVAY, G. J. Localized increase in nodule activity but no competitive interaction of cowpea rhizobia due to pre-establishment of vesicular- arbuscular mycorrhiza. **New Phytol.** **106**: 1987, p. 207-215.

ANDRADE, A. C. et. al. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* schum. cv. napier). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2003, p. 1643-1651.

ARAÚJO, Kalliane Sírío et. al. Eficiência Simbiótica e Identificação de Estirpes de *Burkholderia* Oriundas de Campos Rupestres. **Revista Ciência Agronômica**: n.1, 2017, p.41-48.

AZCÓN, R. et. al. Selective interactions between different species of mycorrhizal fungi and *Rhizobium meliloti* strains, and their effects on growth, N₂ –fixation (15^N) and nutrition of *Medicago sativa* L. **New Phytol.** **117**: 1991, p. 339-404.

AZEVEDO, V. K. et. al. Efeito alelopático de extrato de *Eucalyptus citriodora* e *Pinus elliotti* sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. (alface). **VIII Congresso Brasileiro de Ecologia do Brasil**. Caxambú, Minas Gerais, 2007.

BARETTA, Dilmar et.al. Efeito do monocultivo de *Pinus* e da queima do campo nativo em atributos biológicos do solo no Planalto Sul Catarinense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**: Viçosa, n.5, set-out 2005.

BARETTA, D. et.al. Fauna edáfica avaliada por armadilhas e catação manual afetada pelo manejo do solo na região oeste catarinense. **Revista de Ciências Agroveterinárias** **2**: 2003, p. 97-106.

BATJES, N. H. Management options for reducing CO₂ concentrations in the atmosphere by increasing carbon sequestration in the soil. **Wageningen, ISRIC**: 1999.

BECANA, M. et. al. Recent insights into antioxidant defenses of legume root nodules. **New Phytologist**, v. 188, 2010, p. 960-976.

BECHARA, F. C. **Restauração Ecológica de restingas contaminadas por *Pinus* no Parque Florestal do Rio Vermelho, Florianópolis, SC.** Dissertação (Mestrado)- UFSC, 2003.

BECHARA, F. C. et. al. Invasão biológica de *Pinus elliottii* VAR. *elliottii* no Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis, SC. **Floresta**, v. 44, n.1, 2013, p. 63-72.

BELL, J. et. al. Field inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in rehabilitation of mine sites with native vegetation, including *Acacia* sp. **Aust. Syst. Bot.**16: 2003, p. 131-138.

BERBARA, Ricardo L. L. et. al. Fungos micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. **Revista Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**: Viçosa, 2006, p.54.

BINFARÉ, Ricardo Wabner et. al. **Guia Ilustrado da Flora da restinga de Santa Catarina. Florianópolis-SC.** Dissertação (Mestrado em Perícias Criminais Ambientais)-UFSC, 2016, p. 177, 183 e 188.

BINGELLI, P. An overview of invasive woody plants in the tropics. **University of Wales**, 1998. Disponível em <https://www.researchgate.net/publication/260592168_An_overview_of_invasive_woody_plants_in_the_tropics> Acesso em 2 de dezembro de 2017.

BITENCOURT, F. et. al. Nucleação de *Mimosa bimucronata* O. Kuntze em áreas degradadas pela mineração de carvão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**: vol. 5, 2007, p. 750-752.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Apresentação da diversidade biológica brasileira: Primeiro relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica. **Ministério do Meio Ambiente**: Brasília, 1998.

BRUNDRETT, Mark C. Co evolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytologist**: vol. 154, 2002, p. 275-304.

BURITY, H. A. et. al. Efetividade da inoculação com rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares em mudas de sabiá submetidas a diferentes níveis de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **35**: 2000, p. 801-807.

BURNS, Richard C. & HARDY, Ralph W. F. Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants Perspectives. **Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics**: Vol. 21, 1975, p. 39-60.

CAMPOS, João Batista et. al. **Série Ecossistemas Paranaenses–Restinga**, 2010. Paraná, 2010, p.5-7. Disponível em <http://www.meioambiente.pr.gov.br/arquivos/File/cobf/V1_Restinga.pdf> Acesso em 20 de abril de 2017.

CANEI, A. D. **Avaliação da diversidade de rizóbios de áreas de restinga da Unidade de Conservação Ambiental do Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis, SC**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)-UFSC, Florianópolis, SC. 2014.

CANEI, Andressa D. **Eficiência Simbiótica de Rizóbios Autóctones de Áreas de Restinga em Leguminosas Nativas do Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis-SC**. Dissertação (Mestrado em Ciências)-UFSC, 2017.

CARDOSO, I. M. & KUYPER, T. W. Mycorrhizas and tropical soil fertility. **Agr. Ecosyst. Environ.** **116**: 2006, p. 72-84.

CARVALHO, Teotonio Soares de. & MOREIRA, Fatima Maria de Souza. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. 2010. Capítulo 13, p.383-413.

CATFORD, J. G. et.al. Suppression of arbuscular mycorrhizal colonization and nodulation in split-root system of alfafa after pre-inoculation and treatment with Nod factors. **Exp. Bot.** **54**: 2003, p. 1481-1487.

CHEN, W. M. et.al. *Burkholderia mimosarum* sp. Nov. isolated from nodules of *Mimosa* spp. From Taiwan and South America. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** **56**: 2006, p. 1847-1851.

CHEN, W. M. et. al. *Burkholderia nodosa* sp. nov., isolated from root nodules of the woody Brazilian legumes *Mimosa bimucronata* and *Mimosa scabrella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 57, 2007, p. 1055-1059.

CHEN, Wenxin et. al. Characteristics of *Rhizobium tianshanense* sp. nov., a moderately and slowly growing Root Nodule Bacterium isolated from an Arid Saline Environment in Xinjiang, People's Republic of China. **International Journal of Systematic Bacteriology**: jan. 1995, p. 153-159.

CHEN, W. et. al. Proof that *Burkholderia* strains from effective symbioses with legumes: a study of novel *Mimosa* nodulating strains from South America. **Applied and Environmental Microbiology** 71: 2005, p. 7461-7471.

CHEN, W. M. et. al. *Ralstonia taiwanensis* sp. Nov. isolated from nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 51: 2001, p. 1729-1735.

CLEVELAND, Cory C. et. al. Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N_2) fixation in natural ecosystems. **Global Biogeochemical Cycles**: vol. 13, 1999, p.623-645.

COUTINHO, H. L. C. et. al. Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. **Applied Soil Ecology** 391: 1999, p. 1-9.

DAVIS, M. A. **Invasion Biology**. Oxford, USA. Oxford University Express, 2009.

DDPA. Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária. **Catálogo SEMIA** 01. 2017.

DICK, D. P. et. al. Impacto da introdução de *Pinus* nas características químicas e na composição da matéria orgânica de Neossolos de Campos de Cima da Serra, RS. **XXXI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**: vol. 1, Porto Alegre, 2007, p. 236.

DISPIGNO, L. & ZALBA, S. M. Cambios em las comunidades vegetales luego Del control de ejemplares aislados de *Pinus halepensis*. San Luis, Argentina. **XXIX Jornadas Argentinas de Botánica**: 2003.

DUPONNOIS, R. et. al. Soil factors influencing the growth response of *Acacia holosericea* A. Cunn.Ex G. Don toecto mycorrhizal inoculation. **New Forest** **35**: 2008, p.105-117.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **EMBRAPA**. Bases Moleculares e Genéticas da Fixação do Nitrogênio. Outubro/ 1997, p. 1-7.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **EMBRAPA**. “Beta-rizóbios”: os novos simbioses encontrados em espécies de *Mimosa*. Planaltina, 2006, p. 9-13.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **EMBRAPA**. Protocolo para Preparo de meios de cultura da Embrapa Agrobiologia. Dezembro/1999, p. 9.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **EMBRAPA**. Revegetação de voçorocas com leguminosas arbóreas inoculadas e micorrizadas. Rio de Janeiro, 2017. Disponível em <<https://www.embrapa.br/busca-de-produtos-processos-e-servicos/-/produto-servico/856/revegetacao-de-vocorocas-com-leguminosas-arboreas-inoculadas-e-micorrizadas>> Acesso em 19 de maio de 2017.

Fabaceae in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB115>> Acesso em 16 de setembro de 2018.

FACELLI, J. M. & LEÓN, R. J. C. El establecimiento espontáneo de árboles em la Pampa, um enfoque experimental. **Phytocoenologia** **14**: 1986, p. 263-274.

FALLEIROS, Renan Macari et. al.. Invasão e Manejo de *Pinus taeda* em Campos de Altitude do Parque Estadual do Pico Paraná, Paraná, Brasil. **Floresta**: Curitiba, PR, v.41, n.1, jan./mar. 2011, p. 123-134.

FATMA. **Parque Estadual do Rio Vermelho**, 2017. Santa Catarina, 2017. Disponível em <<http://www.fatma.sc.gov.br/conteudo/parque-estadual-do-rio-vermelho>> Acesso em 20 de abril de 2017.

FERREIRA, A. G. & AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**: vol. 12, 2000, p. 175-204. FERREIRA, F. A. C. et. al. **Projeto do Parque Estadual do Rio Vermelho**. Subsídios ao Plano de Manejo. Florianópolis, 2009.

FERREIRA, Magda Cristiani & HUNGRIA, Maristela. Recovery of soybean inoculant strains from uncropped soils in Brazil. **Elsevier Science**: 2002, p. 139-152.

Flora do Brasil-Fabaceae in **Flora do Brasil** 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB19129>> Acesso em 5 de maio de 2017.

FOLLI-PEREIRA, Muriel da Silva et. al. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**: Viçosa, v. 36, n.6, 2012.

FRANCO, Avílio Antônio & BALIEIRO, F. C. The role of biological nitrogen fixation in land reclamation, agroecology and sustainability of tropical agriculture. **Academia Brasileira de Ciências**: Rio de Janeiro, 2000, p. 209-234.

FRANCO, Avílio Antônio & DAY, J. M. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. In acid soils of Brazil. **Embrapa**: vol. 30, Rio de Janeiro, 1980, p. 99-105.

FRANCO, Avílio Antônio et. al. Importância das Leguminosas Arbóreas na Recuperação de Áreas Degradadas e na Sustentabilidade de Sistemas Agroflorestais. **Embrapa**: Rio de Janeiro, p. 1.

FRANCO, Avílio Antônio et. al. The importance of biological nitrogen fixation on land rehabilitation. **Kluwer**: 2000, p. 569-570.

FRANCO, Avílio Antônio et. al. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: Um modelo tecnológico. **Universidade Rural do Rio de Janeiro**: Rio de Janeiro, 1995, p. 459-467.

FRED, Edwin Broun & WAKSMAN, Selman A. **Laboratory Manual of general Microbiology**, 1928.

FULLIN, Eli Antonio et. al. Nitrogênio e Molibdênio na adubação do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: vol. 34, n.7, 1999, p. 1145-1149.

GARSABALL, J. A. L. & CUEVAS, M. C. S. Desinfección de ápices de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) cv. "Querepa Rosada" con hipoclorito de sodio. **Revista UDO Agrícola**: v.6, n.2, 2006, p. 60-66.

GERDEMANN, J. W. & NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, vol. 46, 1963, p. 235-244.

GIONGO, A. et. al. Evaluation of genetic diversity of bradyrhizobia strains nodulating soybean *Glycine max* (L.) Merrill isolated from South Brazilian fields. **Applied Soil Ecology**: vol. 38, 2008, p. 261-269.

GOMES, F. H. et.al. Solos sob Vegetação de Restinga na Ilha do Cardoso (SP). I- Caracterização e Classificação. **Revista Brasileira Ciência do Solo** **31**: 2007, p. 1563-1580.

GOSS, M. J. & DE VARENNES, A. Soil disturbance reduces the efficacy of mycorrhizal associations for early soybean growth and N₂ fixation. **Soil Biol. Biochem.** **34**: 2002, p. 1167-1173.

GOVINDARAJULU, M. et. al. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Nature** **435**: 2005, p. 819-823.

GUIMARÃES, Maria. Iluminação Natural. **Revista Pesquisa FAPESP**: n.254, 2017.

GUREVITCH, J. et. al. The ecology of plants. **Sunderland**: USA. 2006.

- HAYES, K. F. & TRAINA, S. J. Metal speciation and its significance in ecosystem health. **Soil Science Society of America** **52**: 1998, p.45-84.
- HEBERLE, Daniel Alexandre. **Heterogeneidade Ambiental do Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis-SC**. Dissertação (Mestrado em Planejamento Territorial e Desenvolvimento Socioambiental)- UDESC, 2011, p.13-15.
- HOAGLAND, D. R. & ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: **California Agriculture Experiment Station**: 1950, p.32.
- HOBBS, R. J. Disturbance, a precursor to weed invasion in native vegetation. **Plant Protection quarterly** **6**: 1991, p. 99-104.
- HUNGRIA, Mariangela & VARGAS, Milton A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**: vol. 65, 2000, p. 151-164.
- HUNGRIA, Mariangela et. al. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. **Embrapa**: Londrina, 2001.
- IBAMA. **Manual de Recuperação de Áreas Degradadas pela Mineração: Técnicas de Revegetação**. Brasília, 1990.
- IRWIN, H. S. Advances in legume systematics. **Royal Botanic Gardens**: 1981.
- JAYAKUMAR, P & TAN, T. K. Changes during early ectomycorrhizal formation by *Pisolithus tinctorius* on *Acacia mangium*, and their impact on nodule formation by *Bradyrhizobium* sp. **Symbiosis** **40**: 2005a, p. 141-149.
- JAYAKUMAR, P. & TAN, T. K. Growth performance and nodulation response of *Acacia mangium* co-inoculated with *Bradyrhizobium* sp. and *Pisolithus tinctorius*. **Symbiosis** **40**: 2005b, p. 109-114.
- JORDAN, D. C. Rhizobiaceae Conn 1938. **Bergey's Manual of systematic bacteriology**: 1984, 234-244.

- KAHINDI, J. H. P. et. al. Agricultural intensification, soil biodiversity and ecosystem function in the tropics: the role of nitrogen-fixing bacteria. **Applied Soil Ecology**: vol. 6, 1997, p. 55-76.
- KASS, Ernst & WINK, Michael. Molecular phylogeny and phylogeography of *Lupinus* (Leguminosae) inferred from nucleotide sequences of the *rbcL* gene and ITS 1 + 2 regions of rDNA. **Plant Systematics and Evolution**: vol. 208, 1996, p. 139-167.
- KASS, Ernst & WINK, Michael. Phylogenetic Relationships in the *Papilionoideae* (Family Leguminosae) based on Nucleotide Sequences of cpDNA (*rbcL*) and ncDNA (ITS 1 and 2). **PubMed**: 1997.
- KIMURA, Motoo. **The Neutral Theory of Molecular Evolution**. 1983.
- KIRKBRIDE JUNIOR, Joseph H. Ocorrência de Leguminosas Arbóreas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira 19**: Brasília, 1984, p. 23-46.
- KOSKE, R. E. & GEMMA, J. N. *Glomus nanolumen* (Endogonaceae), a new species from Hawaii. **Mycologia**: vol. 81, 1989, p. 935-938.
- LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. **Geoderma 123**: 2004, p. 1-22.
- LAMMEL, Daniel R. et. al. Woody *Mimosa* species are nodulated by *Burkholderia* in ombrophylous forest soils and their symbioses are enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). **Plant Soil**, 393, 2015, p. 123-135.
- LESUEUR, D. & DUPONNOIS, R. Relations between rhizobial nodulation and root colonization of *Acacia crassiparva* provenances by an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices* Schenk & Smith or an ectomycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius* Coker & Couch. **Ann. For. Sci. 62**: 2005, p. 467-474.
- LEWIS, K. E. et. al. Legumes of the world. **Royal Botanical Gardens, Kew**, 2005. 727p.
- LOUREIRO, M. F. et. al. Nitrogen-fixing stem nodules of the legume *Discolobium pulchellum* Benth. **New Phytologist 128**: 1994, p. 283-295.

LOUREIRO, M. F. et. al. Photosynthetic characteristics of strains of rhizobia isolated from stem nodules of *Aeschynomene fluminensis* grown in the Pantanal region Brazil. New Horizons in Nitrogen Fixation. **Kluwer Academic Publishers**: 1993.

LOUREIRO, M. F. et. al. Stem and root nodules on the tropical wetland legume *Aeschynomene fluminensis*. **New Phytologist** **130**: 1995, p.531-544.

MAGALHÃES, Luis M. S. & BLUM, Winfried E. H. Nodulação e Crescimento de *Cedrelinga catenaeformis* Ducke em plantios experimentais na região de Manaus-AM. **Embrapa**: vol. 19. Brasília, 1984.

MAHMOUD, A. G. E. et. al. Invasão de *Pinus elliotti* em um fragmento de cerrado em Itarapina-SP. 2003. **UNICAMP**. Disponível em <<https://www2.ib.unicamp.br/profs/fsantos/relatorios/bt791r2a2003.pdf>>

Acesso em 2 de dezembro de 2017.

MALLOCH, D. W. et. al. **Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants**. 1980.

MANTOVANI, W. A degradação dos biomas brasileiros. Patrimônio Ambiental Brasileiro. **Uspiana: Brasil 500 anos**. Editora da Universidade de São Paulo. Imprensa Oficial do Estado de São Paulo. 2003.

MARCHETTI, Marithsa Maiara et.al. Caracterização de Bactérias em Nódulos de Leguminosas Arbóreas de Fragmentos de Floresta Ombrófila Mista. **Revista Scientia Agraria**: vol. 18, n.4, 2017, p. 50-62.

MARCHIORI, José Newton Cardoso. Anatomia da madeira e casca do maricá, *Mimosa bimucronata* (DC.) O. Kuntze. **Ci. Flor.**: Santa Maria, n.1, 1993, p.85-106.

MARQUES, O. A. V. e DULEBA, V. **Estação Ecológica Juréia-Itatins- Ambiente físico, flora e fauna**. Editora Holos, Ribeirão Preto. 2004.

MARSCHNER, H. & DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant Soil** **159**: 1994, p. 89-102.

MARTINS, Adriana Ferreira et. al. Diversidade genética, tolerância aos fatores de acidez e eficiência simbiótica de rizóbios para cornichão de solos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**: vol. 35, n.6. Viçosa, nov-dez, 2011.

MASCHIO, Lucilla Marshall de Araújo et. al. Estabelecimento de Espécies Florestais em Substrato degradado. **Boletim de Pesquisa florestal**, n.35, 1997, p. 39-48.

MATSUDA, Alexandre et. al. Tolerância de rizóbios de diferentes procedências ao zinco, cobre e cádmio. **Embrapa**: vol. 37, n.3, 2002.

MAZIA, C. N. et. al. Limits to tree species invasion in Pampean grassland and forest plant communities. **Oecologia 128**: 2001, p. 594-602.

MCGONIGLE, T. P. et. al. A New Method which give an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**: vol. 115, 1990, p. 495-501.

MEGHVANSI, M. K. et. al. Response of soybean cultivars toward inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* in the alluvial soil. **Eur. J. Soil. Biol. 44**: 2008, p. 316-323.

MENEZES, Christiano Marcelino. **A Vegetação de restinga no Litoral Norte da Bahia, influenciada evolução quaternária da Zona Costeira: estudo de caso Fazenda Riacho das Flores, Mata de São João, Bahia**. Dissertação (mestrado)-UFBA-2007.

MERGULHÃO, A. C. E. S. et. al. Influência da dupla inoculação rizóbio e fungos micorrizas-arbusculares em plantas de sabiá sob solos de diferentes texturas. **Ecossistema 26**: 2001, p. 42-47.

MIGUEL, D. L. & MOREIRA, F. M. S. Influência do pH do Meio de Cultivo e da Turfa no Comportamento de Estirpes de *Bradyrhizobium*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo 25**: 2001, p.873-883.

MILLER, R. M. & KLING, M. The importance of interaction and scale in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **PlantSoil 226**: 2000, p. 295-309.

- MITTERMEIER, R. A. et. al. Hotspots-earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. **Cemex Conservation International**: 1997.
- MOCOCHINSKI, A. Y. **Campos de Altitude na Serra do Mar paranaense: aspectos florísticos**. Dissertação (mestrado)-UFPR-2006.
- MOONEY, H. A. CLELAND, E. E. The Evolutionary Impact of invasive species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**: vol. 98, n. 10, 2001, p. 5446-5451.
- MOREIRA, Fatima M. S. et. al. **Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros**. 2008. Capítulo 18, p. 621-680.
- MOREIRA, F. M. et. al. Biodiversity of rhizobia isolated from a wide range of forest legumes in Brazil. **Mol. Ecol.** **7**: 1998, p. 889-95.
- MOREIRA, F. M. S. et. al. Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical Leguminosae by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins. **Systematic and Applied Microbiology** **16**: 1993, p. 135-146.
- MOREIRA, Fatima M. S. & SIQUEIRA, José Oswaldo. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2006.
- MOREIRA, F. M. S. et. al. Occurrence of nodulation in legume species in the Amazon region of Brazil. **New Phytologist** **121**: 1992, p. 563-570.
- MORTIMER, P. E. et. al. The role of arbuscular mycorrhizal colonization in the carbon and nutrient economy of the tripartite symbiosis with nodulated *Phaseolus vulgaris*. **Soil Biol. Biochem.** **40**: 2008, p. 1019-1027.
- MOULIN, Lionel et. al. Nodulation of legumes by members of the β -subclass of Proteobacteria. **Nature** **411**: 2001, p. 948-950.
- MOURA, Ginaini Grazielli Doin de et. al. Rhizobia isolated from Coal Mining Areas in the Nodulation and Growth of Leguminous Trees. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, vol. 40, 2016.

NEVES, M. C. P. et. al. Adaptation of more efficient soybean and cowpea strains to replace established populations. **Biological nitrogen fixation, sustainability of tropical agriculture**: 1992, p.219-223.

NICODEMO, Maria Luiza Francheschi. Uso de biomassa microbiana para avaliação de qualidade do solo em sistemas silvipastoris. **Embrapa Pecuária Sudeste, documentos 93**. São Carlos, 2009.

NOGUEIRA, Natiélia Oliveira et.al. Utilização de Leguminosas para Recuperação de Áreas Degradadas. **Enciclopédia Biosfera**: Goiânia, n. 14, 2012, p. 2122.

OEHL, Fritz et. al. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. **IMA Fungus**, vol.2, n.2, p. 191-199, 2011.

OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. **Revista Brasileira de Botânica**: vol. 24, n. 1, 2001, p. 1-17.

PARKER, I. M. et. al. Impact: toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. **Biological Invasions 1**: 1999, p. 3-19.

PATREZE, Camila Maistro. Fixação de Nitrogênio e Micorrização em Leguminosas de Mata Ciliar. São Paulo, 2003, p. 5-6. **Repositório UNESP**. Disponível em https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/87886/patreze_cm_me_rcl_a.pdf?sequence=1 Acesso em 25 de abril de 2017.

PEREIRA, E. G. **Diversity of rhizobia isolated from different land use systems in Amazon region**. Dissertação (pós-doutorado)-Universidade Federal de Lavras-2000.

PEREIRA, J. C. **Ecologia da comunidade bacteriana em solos de cerrados**. Dissertação (pós-doutorado)-Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-1995.

PERES, J. R. R. et. al. Eficiência e competitividade de estirpes de rizóbio para soja em solo de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **17**: 1993, p. 357-363.

PHILIPPOT, L. et. al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nat. Rev. Microbiol**, 11, 2013, p. 789-799.

PHILLIPS, J. M. & HAYMAN, D. S. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 55, p. 158-161, Aug. 1970.

PIRES, Raquel de Castro et. al. Soil characteristics determine the rhizobia in association with different species of *Mimosa* in central Brazil. **Plant Soil**, 423, 2018, p. 411-428.

PIVELLO, V. R. Invasões biológicas no cerrado brasileiro: efeitos da introdução de espécies exóticas sobre a biodiversidade. **Ecologia**. Disponível em <<http://ecologia.info/cerrado.htm>> Acesso em 2 de dezembro de 2017.

POLHILL, Roger M. et. al. Systematic significance of flavonoids in *Derris* and *Lonchocarpus*. **Biochemical Systematics and Ecology**: vol. 9, 1981, p. 129-147.

PRALON, A. Z. & MARTINS, M. A. Utilização do resíduo industrial *ferkal* na produção de mudas de *Mimosa caesalpiniaefolia*, em estéril de extração de argila, inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e rizóbio. **Revista Brasileira Ciência do Solo** **25**: 2001, p.55-63.

PURCINO, H. M. A. et. al. Identification of effective strains of *Bradyrhizobium* for *Arachis pintoi*. **Tropical Agriculture**: vol. 77, n.4, Sete Lagoas, 2000, p. 226-231.

PYSEK, P. & RICHARDSON, D. M. Invasive Plants. **Encyclopedia of Ecology: Ecological Engineering**: vol. 3, Oxford: Elsevier, 2008, p. 2011-2020.

- RAMBO, B. Leguminosae Riograndense. São Leopoldo, Instituto Anchietano de Pesquisas, 1966. 166p.
- RAMOS, M. L. G. et. al. Native and inoculated rhizobia isolated from field grown *Phaseolus vulgaris*: effects of liming an acid soil on antibiotic resistance. **Soil Biology and Biochemistry** **19**: 1987, p.179-185.
- REITZ, R. et. al. Projeto Madeira do Rio Grande do Sul. **Sellowia**: vol. 34-35, 1983, p. 1-525.
- RICHARDSON, D. M. & BOND, W. J. Determinants of plant distribution: evidence from pine invasions. **The America Naturalist** **137**: 1991, p. 639-668.
- RICHARDSON, D. M. et. al. Alien conifer invasions in South America: short fuse burning? **Biological Invasions**: vol. 10, 2008, p. 573-577.
- RICHARDSON, D. M. et. al. Naturalization and Invasion of alien plants: concepts and definitions. **Diversity and distribution**: vol.6, 2000, p.93-107, 2000.
- RICHARDSON, D. M. et. al. Pine invasions in the Southern Hemisphere: determinants of spread and invadability. **Journal of Biogeography** **21**: 1994, p. 511-527.
- RICHARDSON, D. M. Forestry trees as invasive aliens. **Conservation Biology**: vol. 12, n.1, 1998, p. 18-26.
- ROCHA, C. F. D. et. al. Os remanescentes dos habitats de restinga na Floresta Atlântica do estado do Rio de Janeiro, Brasil: perda de hábitat e risco de desaparecimento. **Brazilian Journal of Biology**: vol. 67, n.2, São Carlos, 2007.
- ROSSELLÓ-MORA, R. & AMANN, R. The species concept for prokaryotes. **FEMS Microbiol Rev.**: 2001, p. 39-67.
- ROUGET, M. et. al. Predicting invasion dynamics of four alien *Pinus* species in a highly fragmented semi-arid shrubland in South Africa. **PlantEcology** **152**: 2001, p. 79-92.

ROVEDDER, Ana Paula Moreira et. al. Desenvolvimento do *Pinus elliottii* e do *Eucalyptus tereticornis* consorciado com plantas de cobertura, em solos degradados por arenização. **Ciência Rural**: Santa Maria, n.1, jan.-fev. 2008, p. 84-89.

SANTOS, M. A. et. al. Characterization of soybean *Bradyrhizobium* strains adapted to the Brazilian savannas. **FEMS Microbiology Ecology** **30**: 1999, p. 261-272.

SARRUGE, J. R. & HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. ESALQ, Piracicaba, 1979.

SCOTTI, M. R. M. M. L. et. al. Streptomycin resistance of *Rhizobium* isolates from Brazilian cerrados. **Anais de Academia Brasileira de Ciências** **54**: 1982, p. 733-738.

SHIMIZU, J. Y. *Pinus* na silvicultura brasileira. **Revista da Madeira**: vol. 16, n. 99, 2006, p. 4-14.

SILVA-JÚNIOR, J. P. & SIQUEIRA, J. O. Colonização micorrízica e crescimento da soja com diferentes fungos e aplicação do isoflavonóide formononetina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **33**: 1998, p.953-959.

SILVA, L. A. et. al. Biologia da reprodução de *Mimosa bimucronata* - uma espécie ruderal. **Planta Daninha**, Viçosa, 2011. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-835820110005000007> Acesso em 25 de abril de 2017.

SILVA, M. F. et. al. Leguminosas da Amazônia Brasileira: Lista prévia. **Sociedade Brasileira de Botânica**: Belém, 1989, p. 193-237.

SILVA, Sandro Menezes. Diagnóstico das Restingas do Brasil. Universidade Federal do Paraná. Disponível em <http://rodadas.anp.gov.br/arquivos/Round7/arquivos_r7/PERFURACAO_R7/refer/Restingas.pdf> Acesso em 14 de setembro de 2018.

- SIMBERLOFF, D. et. al. Spread and impact of introduced conifers in South America: Lessons from other southern hemisphere regions. **Austral Ecology**: 2010.
- SIMBERLOFF, D. & VON HOLLE, B. Positive interactions of non-indigenous species: invasional meltdown? **Biological Invasions** **1**: 1999, p. 21-32.
- SIMBERLOFF, D. Introduced insects: A biogeographic and systematic perspective. **Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii**: New York, 1986, p. 3-26.
- SINGH, G & MUKERJI, K. G. Root exudates as determinant of rhizosferic microbial biodiversity. **Microbial Activity in the Rhizosphere**: 2006, p. 39-53.
- SINGLETON, P. W. et. al. Legume Response to Rhizobial Inoculation in the Tropics: Myths and realities. **Soil Science Society of America and American Society of Agronomy**: n.29, 1992.
- SIQUEIRA, José Oswaldo & FRANCO, Avílio Antônio. **Biotecnologia do Solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília, 1988.
- SIQUEIRA, J. O. et. al. Matéria Orgânica em solos degradados. IN: SANTOS, G. et.al. **Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo**. 2008, p. 495- 518.
- SIQUEIRA, José Oswaldo et. al. **Tópicos em Ciência do Solo**. 2007. Capítulo Micorrizas e Degradação do Solo, p. 219-290.
- SIQUEIRA, J. O. & MOREIRA, F. M. S. Microbial populations, activities in highly-weathered acidic soils: highlights of the Brazilian research. **Brazilian Soil Science Society**: Campinas, 1997, p. 139-156.
- SIVIERO, M. A. et. al. Interaction among N-fixing bacteria and AM fungi in Amazonian legume tree (*Schizolobium amazonicum*) in field conditions. **Appl. Soil Ecology** **39**: 2008, p.144-152.
- SOMMER, S. & ROSATELLI, J. S. **Mapeamento temático do município de Florianópolis: solos**. Síntese temática. Florianópolis. IBGE: IFUF, 1991, 30 p.

SOUZA, L. A. G. et. al. Evaluation of the growth of *Rhizobium* from leguminous forest trees on different culture media. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **19**: 1984, p. 165-168.

STOCCO, Priscila et. al. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbiossantes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32. 2008, 1107-1120.

STOFFEL, Shantau Camargo Gomes et. al. Micorrizas arbusculares no crescimento de leguminosas arbóreas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. **Cerne**, vol. 22, n.2, 2016, p. 181-188.

SY, A. et. al. Methylophilic Methylobacterium bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. **Journal of Bacteriology** **183**: 2001, p. 214-220.

TAULÉ, Cecilia et. al. New Betaproteobacterial *Rhizobium* strains able to efficiently nodulate *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan. **Journals AEM** **6**: vol. 78, 2012, p. 1692-1700.

TEDESCO, Marino José et. al. Análises de solo, plantas e outros materiais. **Boletim Técnico de Solos**: n.5. Porto Alegre, 1995.

THANOS, C. A. & DASKALAKOU, E. N. Reproduction in *Pinus halepensis* and *P. brutia*. Ecology, Biogeography and Management of *Pinus halepensis* and *P. brutia*. Forest Ecosystems in the Mediterranean Basin. **The Netherlands**: 2000, p. 79-90.

TRANNIN, I. C. B. et. al. Tolerância de estirpes e isolados de *Bradyrhizobium* e de *Azorhizobium* a zinco, cádmio e cobre “in vitro”. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **25**: 2001, p. 305-316.

TSITSONI, T. & KARAGIANNAKIDOU, V. Site quality and stand structure in *Pinus halepensis* forests of north Greece. **Forestry** **73**: 2000, p. 51-64.

USP-UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Metabolismo do Nitrogênio. São Paulo, 2002. **ESALQ**. Disponível em

<<http://docentes.esalq.usp.br/luagallo/nitrogenio.htm>> Acesso em 19 de maio de 2017.

UFSC-UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. **Boletim do Parque Estadual do Rio Vermelho**, 2007. Informativo n.1. Santa Catarina, 2007.

URGS-UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. **Flora Digital do Rio Grande do Sul**, 2010. Florianópolis, 2010. Disponível em <http://www.ufrgs.br/fitoecologia/lorars/open_sp.php?img=4402> Acesso em 16 de maio de 2017.

URGS-UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. **Flora Digital do Rio Grande do Sul**, 2011. Viamão, 2011. Disponível em <http://www.ufrgs.br/fitoecologia/lorars/open_sp.php?img=6199> Acesso em 27 de abril de 2017.

VADEZ, V. et. al. Utilization of the acetylene reduction assay to screen for tolerance of symbiotic N₂ fixation to limiting P nutrition in common bean. **Physiol. Plantarum** **99**: 1997, p. 227-232.

VAN BERKUN, P. & EARDLY, B. D. The aquatic budding bacterium *Blastobacter denitrificans* is a nitrogen-fixing symbiont of *Aeschynomene indica*. **Applied and Environmental Microbiology** **68**: 2002, p. 1132-1136.

VAN DER HEIJDEN, Marcel G. A. et. al. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature International Journal of Science**: 1998.

VARGAS, A. A. T. & DENARDIN, N. D. Tolerance to acidity and soil aluminum by rhizobia strains of beans isolated in São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** **16**: 1992, p.337-342.

VARGAS, Milton A. T. et. al. Duas novas estirpes de rizóbio para a inoculação da soja. **EMBRAPA**: n. 62, 1992.

- VASHCHENKO, Y. et. al. Fragilidade ambiental nos picos Camacua, Camapuã e Tucum, Campina Grande do Sul, PR. **Revista Floresta**: vol. 37, n. 2, 2007, p. 201-215.
- VENTURIERI, Giorgini A. **O Parque do Rio Vermelho: Pelas Palavras de seu fundador Henrique Berenhauser**. 2013. Capítulo 1, p.20-21.
- VIERHEILIG, H. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants is suppressed after a critical level of root colonization. **Journal Plant Physiol.** **161**: 2004, p. 339-341.
- VINCENT, J. M. A. Manual for the Practical Study of root-nodule bacteria. Oxford: **Blackwell Scientific (International biological programme handbook, 15)**: 1970, p. 164.
- WALKER, C. Formation and dispersal propagules of endogonaceous fungi. Fungal infection in Plants, **Cambridge University Press**: Cambridge, 1988, p. 269-284.
- WANG, B. & QIU, Y. L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. **Mycorrhiza** **16**: 2006, p. 299-363.
- WARDLE, David A. et. al. Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. **Science**: vol. 304, 2004.
- WARNER, N. J. et. al. Dispersal agents of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a disturbed arid ecosystem. **Mycologia** **79**: 1987, p. 721-730.
- WEAVER, R. & FREDERICK, L. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. **Agronomy Journal** **66**: 1974, p. 233-236.
- WERNEGREEN, J. J. & RILEY, M. A. Comparison of the evolutionary dynamics of symbiotic and housekeeping loci: a case for the genetic coherence of rhizobial lineages. **PubMed**: 1999, p. 98-113.
- WOESE, Carl R. Bacterial Evolution. Microbiological Reviews. **America Society of Microbiology**: vol. 51, n. 2, 1987, p. 221-271.

- WOJCIECHOWSKI, Martin F. et. al. A phylogeny legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *matK* gene resolves many well-supported subclades within the family. **American Journal of Botany**: 2004.
- XAVIER, G. R. et. al. Edaphic factors as determinants for the distribution of intrinsic antibiotic resistance in a cowpea rhizobia population. **Biology and Fertility of Soils** **27**: 1998, p. 386-392.
- ZALBA, S. M. et. al. Invasion of *Pinus halepensis* Mill. following a wildfire in an Argentine grassland nature reserve. **Journal of Environmental Management** **88**: 2008, p. 539-546.
- ZALBA, S. M. et. al. Manejo de invasiones biológicas y conservación de biodiversidad, conclusiones Del Taller Nacional. **Universidad Nacional del Sur**: Argentina, 1999.
- ZALBA, S. M. & VILLAMIL, C. B. Woody plant invasion in relictual grasslands. **Biological Invasions** **4**: 2002, p.55-72.
- ZILLER, S. R. **A estepe gramíneo-lenhosa no segundo planalto do Paraná: diagnóstico ambiental com enfoque à contaminação biológica**. Tese de doutorado. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2000.